



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
ENGENHARIA DE ALIMENTOS

GEOVANKA MARCELLE AGUIAR LEÃO

**TRIAGEM FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DO JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L.) CONTRA
PATÓGENOS ALIMENTARES.**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PALMAS
2018

GEOVANKA MARCELLE AGUIAR LEÃO

**TRIAGEM FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DO JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L.) CONTRA
PATÓGENOS ALIMENTARES.**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado ao curso de engenharia de alimentos da Universidade Federal do Tocantins – UFT, como requisito para a obtenção do grau de Engenheira de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Solange Cristina Carreiro

PALMAS

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

L437t Leão, Geovanka Marcelle Aguiar.
Triagem fitoquímica e avaliação in vitro da atividade antimicrobiana do jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) contra patógenos alimentares.. / Geovanka Marcelle Aguiar Leão. – Palmas, TO, 2018.
55 f.

Monografia Graduação - Universidade Federal do Tocantins –
Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Engenharia de Alimentos,
2018.

Orientadora : Solange Cristina Carreiro

Coorientadora : Juliana Fonseca Moreira da Silva

1. Antimicrobianos naturais. 2. Jatobá. 3. Doença transmitida por alimentos. . 4. Agente bactericida. I. Título

CDD 664

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

TERMO DE APROVAÇÃO

GEOVANKA MARCELLE AGUIAR LEÃO

TRIAGEM FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L.) CONTRA PATÓGENOS ALIMENTARES.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Tocantins – UFT, como requisito à obtenção do grau de Engenharia de Alimentos.

Solange Cristina Carreiro

Professora Doutora

Juliana Fonseca Moreira da Silva

Professora Doutora

Mirelle Ribeiro Araújo

Mestranda

Apresentado em: 11 / 12 / 2018 PALMAS.

Dedico este trabalho à minha família que sempre me apoiou, em especial a minha mãe, minha rainha, Audicilene Mendonça Leão, pela garra, cuidado e dedicação. Amo vocês. Obrigada por tudo.

AGRADECIMENTOS

Agradecer primeiramente a Deus pelo folego de vida e por até aqui ter me ajudado!

Agradeço as minhas orientadoras, a querida Profa. Dra. Solange Carreiro pela parceria e conhecimento passado durante essa jornada. Obrigada por me motivar nas áreas biológicas. A Profa. Dra. Juliana Fonseca, pela sabedoria, aprendizado, contribuição e dedicação com que me guiou nesta trajetória, e por ser minha mãe de laboratório, sempre serei sua pupila!

Aos meus parceiros e amigos de laboratório que participaram deste trabalho, Mirele com toda paciência, Raul e Raimundo, em especial a Professora Dra. Adriana Torcato, minha química favorita que me ajudou e ensinou a manusear o Soxhlet.

Agradeço a técnica do NEAMB (Herbário de Porto Nacional-UFT) Thaíssa Cabreira pela ajuda na exsiccata e obtenção do número de tombamento da planta.

Gostaria de deixar registrado também, o meu reconhecimento aos meus pais João Filho e Audicilene, e a minha irmã Laryssa que sempre me apoiaram e cuidaram de mim mesmo eu estando longe de casa. Aos meus avós Sebastiana e Geraldo Mendonça (*in memoriam*) vocês também foram o motivo dessa conquista. E me sinto honrada em ser a primeira neta a se formar numa Universidade Federal.

Não poderia deixar de agradecer a meu namorado Eduardo Milhomem, que me ajudou na coleta de material e na identificação da planta, subindo e descendo do pé de Jatobá, tirando folha e fruto em sol escaldante, mas ele estava ali me encorajando quando eu não tinha mais esperança em achar pelo menos um fruto pra identificação. Obrigado por tudo amor! você foi muito importante para a realização desse trabalho.

Agradeço imensamente pela vida do meu tio Gilmar Mendonça Leão e esposa Cleonice Alencar, que abriram as portas de sua casa e me acolheram como filha durante muito tempo no início da graduação, e até hoje quando preciso de algo sempre estão prontos a ajudar.

Agradeço também pela vida do meu tio Pedro Amilto Aguiar que tanto me ajudou aqui em Palmas, no que eu precisei sempre esteve presente. Cuidou de mim tanto, fazendo todas as minhas mudanças de uma casa pra outra (rsrs) Agradeço a Deus pela sua vida e pelo carinho que tem comigo.

A todos os professores do curso de Engenharia de Alimentos que passaram seu conhecimento para que hoje eu tivesse uma formação de qualidade, muito obrigada!

A Universidade Federal do Tocantins por possibilitar a minha formação acadêmica e me mostrar que sem esforço, dedicação e persistência a gente não chega a lugar algum.

Enfim, a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização desta pesquisa.

Quanto mais eu estudo a natureza, mas eu fico maravilhado com as obras do Criador. A ciência me aproxima de Deus.

Louis Pasteur

RESUMO

LEÃO, Geovanka Marcelle Aguiar. **TRIAGEM FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L.) CONTRA PATÓGENOS ALIMENTARES.** 2018. 55 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Engenharia de Alimentos. Universidade Federal do Tocantins. Palmas, 2018.

Existem várias pesquisas desenvolvidas e direcionadas à descoberta de novos agentes antimicrobianos provenientes de extratos de plantas. Uma planta de grande importância nutricional, farmacológica, medicinal e industrial é a espécie *Hymenaea courbaril* L., popularmente conhecida como jatobá que pertence à família Fabaceae e apresenta inúmeras variedades. Amostras das folhas e frutos de jatobá foram coletadas, secas, trituradas e submetidas ao tratamento com o extrator Soxhlet para obtenção de compostos bioativos. Propriedades antimicrobianas dos extratos etanólico bruto da folha e do fruto de Jatobá foram testadas com o método de difusão em poço e Concentração Inibitória Mínima (CIM), contra as bactérias de origem alimentar: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* entérica entérica sorovar Typhimurium, *Bacillus cereus* e *Shiguella flexneri*. O extrato etanólico bruto do fruto não apresentou atividade antimicrobiana frente a todos os patógenos testados. Os extratos da folha nas concentrações de 200, 100 e 50 mg/mL apresentaram ação antimicrobiana contra, *S. aureus*, *B. cereus* e *S. flexneri* quando utilizado o método de difusão em poço, para *E. coli* e *S. typhimurium* mostraram-se resistentes ao método. No teste do CIM as cepas de *S. flexneri* e *B. cereus* foram inibidas em todas as concentrações testadas, enquanto para *S. aureus* a inibição foi apresentada apenas na concentração > 6,25 mg / mL. O extrato etanólico de folhas de Jatobá mostrou ser eficiente nas menores concentrações contra *S. flexneri* e *B. cereus*. Na análise fitoquímica foram identificados carotenóides, saponinas, alcalóides, taninos, esteróis e triterpenóides que são compostos com potencial antimicrobiano. O extrato etanólico da folha apresenta potencial para ser utilizado como alternativa natural ao controle desses patógenos veiculados por alimentos.

palavras chave: antimicrobianos naturais, jatobá, doença transmitida por alimentos.

ABSTRACT

LEÃO, Geovanka Marcelle Aguiar. **PHYTOCHEMICAL SCREENING AND *IN VITRO* EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L.) AGAINST FOOD PATHOGENS.** 2018. 55 f. Course Completion Work (Undergraduate) - Food Engineering. Federal University of Tocantins. Palmas, 2018.

There are several researches developed and directed to the discovery of new antimicrobial agents from plant extracts. A plant of great nutritional, pharmacological, medicinal and industrial importance is the species *Hymenaea courbaril* L., popularly known as jatobá that belongs to the family Fabaceae and presents numerous varieties. Samples of the leaves and fruits of jatobá were collected, dried, ground and submitted to the treatment with the Soxhlet extractor to obtain bioactive compounds. Antimicrobial properties of crude leaf and jatobá ethanolic extracts were tested with the well diffusion method and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) against food-borne bacteria: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, enteric enteric *Salmonella* serovar typhimurium, *Bacillus cereus* and *Shigella flexneri*. The crude ethanolic extract of the fruit showed no antimicrobial activity against all the pathogens tested. The extracts of the leaf at the concentrations of 200, 100 and 50 mg/mL showed antimicrobial action against *S. aureus*, *B. cereus* and *S. flexneri* when using the well diffusion method for *E. coli* and *S. typhimurium*, resistant to the method. In the MIC test the *S. flexneri* and *B. cereus* strains were inhibited at all concentrations tested, while for *S. aureus* the inhibition was only present at the concentration > 6.25 mg/mL. The ethanolic extract of leaves of jatobá showed to be efficient in the lowest concentrations against *S. flexneri* and *B. cereus*. In the phytochemical analysis, carotenoids, saponins, alkaloids, tannins, sterols and triterpenoids were identified that are compounds with antimicrobial potential. The ethanolic extract of the leaf presents potential to be used as a natural alternative to the control of these foodborne pathogens.

Keywords: natural antimicrobials, jatobá, foodborne disease.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Fluxograma teste difusão por poço	28
FIGURA 2 – Esquema de distribuição e diluição seriada dos extratos vegetais na microplaca de 96 poços.....	29
FIGURA 3 – Teste de difusão em poço - Inibição do crescimento dos patógenos em meio ágar Mueller Hinton com extrato etanólico da folha de <i>Hymenaea courbaril</i> L.....	32
FIGURA 4 - Concentração Inibitória Mínima do crescimento dos microrganismos (A) <i>S. aureus</i> ; (B) <i>B. cereus</i> ; (C) <i>S. flexneri</i> , em meio ágar Mueller Hinton e extrato etanólico da folha de <i>Hymenaea courbaril</i> L.....	34

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Teste de médias dos halos de inibição dos isolados <i>S. aureus</i> , <i>B. Cereus</i> , <i>S. flexneri</i> em mm durante 24 h de incubação.....	28
TABELA 2 – Resultado da triagem fitoquímica realizada no extrato bruto da espécie vegetal <i>Hymenea Courbaril</i> L.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS

NCCLS - National committee for clinical laboratory standards

PDAs - Substâncias antimicrobianas derivadas de plantas

DTAs - Doenças transmitidas por alimentos

EE - Enterotoxinas estafilocócicas

EEB - Extrato etanólico bruto

CIM - Concentração inibitória mínima

CBM - Concentração bactericida mínima

MS - Ministério da Saúde

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	14
1. REVISÃO DE LITERATURA	16
1.1 Jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.)	16
1.2 Microrganismos causadores de DTAs	17
1.3 Resistência aos antimicrobianos.....	18
1.4 MICRORGANISMOS	19
1.4.1 <i>Escherichia coli</i>	19
1.4.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	20
1.4.3 <i>Salmonella</i> entérica entérica sorovar Typhimurium	21
1.4.4 <i>Bacillus cereus</i>	21
1.4.5 <i>Shigella flexneri</i>	22
2. OBJETIVOS	24
2.1 Geral	24
2.2 Objetivos específicos	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1.1 Coleta e identificação.....	25
3.1.2 Preparo do material vegetal	25
3.1.3 Preparo do extrato etanólico	26
3.1.4 Triagem fitoquímica.....	26
3.2.1 Preparo das soluções de extratos.....	27
3.2.2 Obtenção e manutenção das cepas testadas	27
3.2.3 Preparo e padronização da suspensão bacteriana	27
3.2.4 Teste de difusão por poço.....	28
3.2.5 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	28
3.2.6 Leitura com revelador resazurina.....	29
3.2.7 Delineamento experimental e parcelas	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1 Teste de difusão por poço.....	30
4.2 Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	33
4.4 Análise de fitoquímicos	35
4 CONCLUSÃO	39
5 REFERÊNCIAS	40

INTRODUÇÃO

O Brasil é rico em diversidade biológica, sendo considerado um dos maiores do planeta e por esse motivo muitas plantas vêm sendo usadas em testes por pesquisadores em todo o mundo. Uma alternativa na obtenção de novos produtos com ação antimicrobiana são os testes com extratos vegetais. São muito úteis os métodos populares de consumo como chás e macerados (FIGUEIRA et al., 2016).

As plantas podem produzir uma vasta variedade de metabólitos secundários, como esteróides, alcalóides, terpenóides, glicosídeos, flavonóides, saponinas, taninos, quinonas e cumarinas (DAS e SHRIVASTAVA, 2010). Essas biomoléculas são a fonte de substâncias antimicrobianas derivadas de plantas (PDAs). Alguns produtos naturais têm alto poder no tratamento de infecções bacterianas (ELISHA et al., 2017).

Uma planta que fornece muitos produtos de grande importância nutricional, farmacológica e industrial é a espécie *Hymenaea courbaril* L. conhecida popularmente como jatobá, pertence à família Fabaceae, que apresenta muitas variedades (CRAVEIRO, 1981).

De acordo com Lorenzi e Matos, (2002), o jatobá possui propriedades antioxidantes naturais, é usado como analgésico, sedativo, antisséptico, expectorante, purgativo, laxativo, estimulante e tônico na medicina popular; seu chá de casca é recomendado para diarreia, disenteria e cólicas intestinais. A madeira possui alta durabilidade, sendo utilizada na construção da estrada de ferro de Carajás, e em barris para envelhecimento de cachaça (CÂMARA, 2004; SIMIONI et al., 2018), e em produção de biocombustível sólido (CHITECULO et al., 2018). Além disso, o jatobazeiro fornece fruto comestível para humanos e para a fauna (SHANLEY, 2005).

Do fruto do jatobá se obtém uma farinha, com alto teor de fibra alimentar total, insolúvel, açúcares, grandes quantidades de sais minerais, como potássio, cálcio e zinco, utilizada pela população na fabricação de biscoitos, pães e mingaus, e na formulação de novos produtos em substituição a farinha de trigo (SILVA et al., 2001; AGOPIAN et al., 2015).

A literatura traz registros de usos diversificados para a planta do gênero *Hymenaea*, e parte do que se tem foi descrito por pesquisadores com base na experiência popular. Há também relatos do consumo do chá do ritidoma (superfície

externa do súber) para redução dos níveis de colesterol e glicose e como antisséptico. Sua resina é muito utilizada para tratamento das afecções pulmonares e como emplastro para machucados (MARTINS, 1989; SILVA et al., 2001).

É crescente o interesse em se pesquisar sobre metabolitos bioativos originados de plantas e frutos com indícios de ação antimicrobiana, sendo assim, uma alternativa para controlar doenças de origem alimentar causadas por patógenos (DOS ANJOS et al., 2016).

Tendo em vista a eficácia da planta do gênero *Hymenea*, este trabalho tem por objetivo propiciar informações sobre a espécie (*Hymenaea courbaril* L.), e investigar as propriedades fitoquímicas e antimicrobianas da folha e fruto frente a cepas de bactérias de origem alimentar como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* entérica entérica sorovar typhimurium, *Bacillus cereus*, e *Shigella flexneri*.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Jatobá (*Hymenaea courbaril* L.)

O jatobazeiro *Hymenaea courbaril* L, é uma espécie arbórea nativa do Cerrado, que pertence à família Leguminosae (Fabaceae), subfamília Caesalpinoideae (ALMEIDA, 1993). É conhecido vulgarmente como jatobá, jutaí, jutaí-açu, jutaí-bravo, jutaí grande, jataí, jataí-açu, dentre outros. Apresenta ampla distribuição na América do Sul, na América Central e no México (SHANLEY, 2005).

No Brasil ocorre em toda a região Amazônica, em matas de terra firme e em algumas áreas de várzea alta, podendo também ser encontrado nos campos ou em capoeirão (DUCKE, 1949). Ocorre também nas regiões Nordeste (BRAGA, 1960; CAVALCANTE, 2010), Centro-Oeste (LIMA e PINTO, 2014) e Sudeste (MELO; MENDES, 2005). Na região Sul, ocorre no Estado do Paraná (LUCYSZYN et al., 2009).

Árvores de jatobá podem atingir até 50 m de altura e 2 m de diâmetro (CAVALCANTE, 2010; ROJAS e MARTINA, 1996). Suas sementes têm coloração marrom e valores médios de comprimento, largura e espessura de 20,6 mm, 16,0 mm e 11,4 mm, respectivamente (CRUZ e PEREIRA, 2015).

É considerada sagrada por povos indígenas, que utilizavam os frutos como refeição antes de rituais de meditação, pois acreditavam que o fruto trazia equilíbrio mental, e pesquisas recentes demonstraram que realmente, o fruto pode trazer benefícios à organização mental. Além disso o fruto é rico em ferro, e é indicado a quem sofre de anemia.

A madeira do jatobá é uma das mais valiosas entre todas as espécies (SISTEMA AMBIENTAL PAULISTA, 2016). O jatobá é uma espécie que pode ser utilizada de diversas formas, como na regeneração de ambientes naturais, recomposição de reservas florestais e como fonte alternativa para a manutenção da fauna silvestre (ALMEIDA et al., 2011). A folha possui terpenóides que é utilizado para matar fungos e repelir saúvas e lagartas (SHANLEY, 2005). A infusão das folhas é usada contra bronquite, principalmente em crianças (STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).

A polpa, existente nas sementes, pode ser consumida naturalmente na forma de farinha ou gemada e utilizada para problemas pulmonares (SHANLEY, 2005).

Também pode ser utilizada para desenvolver refrigerantes ou na fermentação para produzir cerveja (PARROTA et al., 1995).

A casca, é utilizada pelos índios para fazerem canoas (RIZZINI, 1971), também é usada no preparo de chás contra gripe, bronquite, cistite, catarro no peito, diarreia, vermes, fraqueza, cólicas, infecções na bexiga, para ajudar na digestão e no tratamento de câncer de próstata (SHANLEY, 2005). O jatobá é importante também pelo potencial que possui como planta fixadora e armazenadora de carbono (MORAES et al., 2013).

1.2 Microrganismos causadores de DTAs

A ocorrência de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) vem aumentando de forma significativa em nível mundial, sendo causadas pelo consumo de alimentos contendo contaminantes físicos, químicos ou biológicos constituindo uma grande preocupação de saúde pública. Uma das razões pela qual acontece a maior parte das contaminações está na não execução de boas práticas de manipulação de alimentos, acarretando em problemas como intoxicação alimentar que pode ocasionar em severos problemas de saúde (MORAIS et al., 2018).

Entre 2000 e 2015 foram registrados no Ministério da Saúde 11.524 surtos de DTA com 219.909 doentes e 167 óbitos, sendo a região Sudeste com maior prevalência no número de surtos de DTA. O MS adverte que a água e os alimentos mistos são os mais envolvidos nos surtos, seguidos por aqueles preparados à base de ovos, tendo como contaminante mais presente a *Salmonella* spp. onde a maioria dos surtos ocorreram nas residências (BRASIL, 2016 a, b; FERREIRA, 2017).

Dados obtidos de surtos de DTAs apontam como agentes etiológicos mais frequentes os de origem bacteriana, destacando-se *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* e *Shigella* sp. Verifica-se que os alimentos mais frequentemente associados aos surtos são de origem animal. O número de surtos de DTAs cresce a cada ano e grande parte dos consumidores desconhece os requisitos necessários para uma correta manipulação de alimentos, incluindo o armazenamento e, principalmente os perigos que podem estar associados aos alimentos contaminados (AMSON et al., 2006).

1.3 Resistência aos antimicrobianos

Um antimicrobiano pode ser um produto químico natural ou sintético que mata ou inibe o crescimento de microrganismos. Agentes que apenas inibem o crescimento são denominados agentes microbiostáticos, por outro lado os que eliminam são denominados de agentes microbicidas (MADIGAN et al., 2016).

A resistência antimicrobiana é considerada um problema de saúde global, que compromete a efetividade dos antibióticos inviabilizando o tratamento de infecções comuns. A resistência ocorre quando microrganismos sofrem mutação genética ao serem expostos a drogas antimicrobianas. Durante o fenômeno de mutação as bactérias estão protegidas dos efeitos antimicrobianos, isso propiciará uma multiplicação bacteriana e impedirá o tratamento e cura de doenças (WHO, 2009; FRACAROLLI et al., 2017).

Por esse motivo cresce a importância em se descobrir novos agentes antimicrobianos, tendo como alternativa os extratos derivados de plantas disponíveis no bioma brasileiro que é rico em diversidade biológica. As plantas medicinais são usadas desde a antiguidade para tratar diversas doenças, com isso intensificado diversas pesquisas na descoberta de novos agentes biologicamente ativos (MARQUES et al., 2017).

O jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) é uma espécie nativa do Brasil e seu principal uso são para fins medicinais, utilizando diferentes estruturas da planta. Informações etnobotânicas evidenciam os potenciais da referida espécie, os quais vêm despertando o interesse da comunidade científica, com estudos satisfatórios de enfoque medicinal e gastronômico, demonstrando que esta espécie tem um grande potencial econômico (SILVA e LAMARCA, 2018).

1.4 MICRORGANISMOS

1.4.1 *Escherichia coli*

E. coli é uma bactéria que é facilmente encontrada no meio ambiente, solo, água e como parte da microbiota intestinal, vivendo em interação com seus hospedeiros (animais e seres humanos) (KALITA et al., 2014).

São bastonetes Gram-negativos, não formadores de esporos, móveis por meio de flagelos peritríquios ou não móveis, com tamanho aproximado de 2.0 µm de comprimento e 0.25 a 1.0 µm de diâmetro. São capazes de crescer em ambas as condições, aeróbica e anaeróbica, e apresentam crescimento ótimo a 37°C. São bactérias catalase-positivas e oxidase-negativas, sendo capazes também de reduzir nitrato (MURRAY et al., 2014; PHE, 2015).

Apesar de serem as enterobactérias predominantes da microbiota intestinal, comensais, algumas espécies de *E. coli* desenvolveram diferentes fatores de patogenicidade que as tornam capazes de causar processos patológicos em seus hospedeiros (KALITA et al., 2014).

A *E. coli* pode ser transmitida pela ingestão de água e alimentos contaminados. Os alimentos de origem animal são importantes vias de transmissão desta bactéria se consumidos *in natura* sem as devidas condições higiênico-sanitárias (FARIAS et al., 2014). A transmissão, embora não tão frequente, também pode ocorrer de pessoa para pessoa, quando as condições de higiene são inadequadas. Também pode ocorrer transmissão por contaminação cruzada (FORSYTHE, 2013). Os sintomas são diarreia, que podem ser precedidas por dores abdominais, febre, vômito, podendo progredir para diarreia sanguinolenta, insuficiência renal e morte em casos extremos. (ROGERS KARA, 2011).

Há várias décadas a *E. coli* vem sendo estudada em relação a sua virulência a antimicrobianos, Ferreira et al. (1996), verificaram a sensibilidade de isolados de *E. coli* em carne moída, linguiça e carne de rã, encontrando resistência a antimicrobianos de 2ª geração.

Franco et al. (2010), avaliou a resistência antimicrobiana de *E. coli* isoladas de carne e dejetos suínos, encontrando resistência das cepas a pelo menos sete antimicrobianos testados e usados no tratamento das enfermidades transmitidas por alimentos.

Ranolfi (2014) verificou a sensibilidade *in vitro* de isolados de *E. coli* provenientes de queijo minas frescal, carne de frango e carne suína. Para isolados de carne de frango foi encontrada resistência a 12 antimicrobianos testados, em carne suína, 10 isolados apresentaram resistência a pelo menos 3 antimicrobianos e 2 isolados provenientes de amostras de queijo minas frescal apresentaram resistência a pelo menos 1 antimicrobiano testado.

1.4.2 *Staphylococcus aureus*

Os estafilococos são bactérias Gram-positivas, com diâmetros entre 0.5 e 1.5 micrômetros. São caracterizados por se dividirem em grupos que se assemelham com cachos de uva (HARRIS et al., 2002). São imóveis, não esporulados e, geralmente, não capsulados, são catalase positiva (SCHLEIFER e BELL, 2009b).

Os estafilococos são microrganismos mesófilos com temperatura de crescimento entre 7 e 47,8°C e podem produzir enterotoxinas termo resistentes a temperaturas entre 10 e 46°C, com temperatura ótima entre 40 e 45° C. O pH ideal para seu desenvolvimento varia entre 7 a 7,5, mas é possível a multiplicação em alimentos com pH variando entre 4,2 e 9,3 (SANTANA et al., 2010).

A intoxicação alimentar por estafilococos é uma das doenças transmitidas por alimentos (DTAs) e resulta da ingestão de enterotoxinas estafilocócicas (EE) pré-formadas em alimentos por cepas enterotoxigênicas de *S. aureus* (HENNEKINNE et al., 2012).

Os sintomas são evidenciados entre uma a sete horas depois da ingestão, incluindo náuseas, vômitos, cólicas abdominais e diarreia. Em casos mais graves pode haver desidratação, dores musculares, dor de cabeça, alteração na pressão arterial e na respiração (FDA, 2012).

Esta bactéria era facilmente controlada com terapia antimicrobiana simples, mas modificações genéticas em suas linhagens fizeram com que desenvolvessem resistência a vários antimicrobianos normalmente utilizados. A utilização indiscriminada de antibióticos tem sido uma das maiores barreiras à cura das infecções causadas por essa bactéria (ALMEIDA et al., 2016).

1.4.3 *Salmonella* entérica entérica sorovar Typhimurium

As Salmonelas pertencem à família Enterobacteriaceae, são bastonetes Gram-negativos, não esporogênicos, anaeróbios facultativos e oxidase negativos (GRIMONT et al., 2000). São responsáveis por quadros de gastroenterite (enterocolite) ou por doenças de transmissão alimentar. Sua distribuição é mundial, sendo os alimentos os principais veículos de sua transmissão. São responsáveis por significantes índices de morbidade e mortalidade, tanto nos países emergentes quanto nos desenvolvidos, determinando pequenos e grandes surtos, envolvendo, principalmente, o consumo de alimentos de origem animal, como ovos, aves, carnes e produtos lácteos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Dentre os diversos sorovares de *Salmonella*, o Typhimurium é um dos sorovares de maior ocorrência no mundo (ALMEIDA, 2016). Específica dos seres humanos, a *S. typhi* é o agente causador da febre tifóide, uma infecção sistêmica caracterizada por febre alta, dor de cabeça, dor abdominal, náuseas, anorexia, perda de peso e calafrios que duram de dias a semanas (FDA, 2012.; GOLDMAN e SCHAFER, 2018).

As infecções por *Salmonella* spp podem ocorrer pela ingestão de alimentos e água contaminados, por contato direto com animais portadores e contaminação orofecal (COBURN et al., 2007; DANTAS, 2018; MARTINS e RUBENS, 2018). Essas cepas tem a capacidade de produzir biofilme e com isso, persistir no ambiente e se dispersar pelos equipamentos nas indústrias de alimentos, favorecendo a contaminação de alimentos de boa qualidade (DANTAS, 2018)

1.4.4 *Bacillus cereus*

B. cereus é um microrganismo anaeróbio facultativo, Gram-positivo, em forma de bastão, relativamente grande (1.0-1.2 μm a 3.0-5.0 μm), formador de esporos e é amplamente distribuído no ambiente, devido à resistência em condições hostis (CEUPPENS et al., 2013).

O gênero *Bacillus* compreende o maior grupo de bactérias formadoras de esporos e tem se tornado um dos grupos mais estudados devido sua ação deteriorante em alimentos e produção de toxinas nos alimentos ou no hospedeiro (IZADI et al., 2016). Esses esporos podem resistir à pasteurização do leite (KUMARI;

SARKER, 2016; MAZIERO et al. 2010). São termo resistentes e suas células podem ser isoladas em grande diversidade de ambientes (BOTTONNE, 2010), estando entre as mais abundantes na rizosfera (OLIVEIRA et al., 2016a).

B. cereus está associado à vários surtos de origem alimentar em todo mundo (ORGANJI et al., 2015). É um contaminante alimentar comum, que é encontrado no solo, em alimentos elaborados ou crus como arroz, carne, legumes, leite, assim como em produtos lácteos e pratos que já foram cozidos (SAMAPUNDO et al., 2011). *B. cereus* é responsável por ocasionar intoxicação alimentar em que comumente ocorrem dois tipos de doença: as síndromes eméticas e diarreicas (MOLS et al., 2011; FDA, 2012).

Segundo Bennett et al. (2015) a presença de *B. cereus* em alimentos só representa risco à saúde quando este se multiplica até atingir populações maiores do que 10^5 células viáveis por grama. Os esporos desta bactéria sobrevivem ao cozimento e, se a refrigeração não for adequada os esporos podem germinar levando as células vegetativas a se multiplicarem.

Mendes et al. (2011) avaliou as condições higiênico sanitárias de um restaurante Universitário de Minas Gerais onde verificou a presença de *B. cereus* em 38,3% das amostras. As contagens atingiram até $5,7 \times 10^2$ UFC/cm², sendo que os valores mais elevados foram obtidos a partir de amostras dos setores de distribuição, indicando a importância destes locais como fontes potenciais de transmissão do microrganismo para os alimentos.

1.4.5 *Shigella flexneri*

A *Shigella* é um bacilo gram-negativo imóvel que pertence à família Enterobacteriaceae. São conhecidas quatro espécies de *Shigella*, divididas em quatro grupos com base na similaridade sorológica e nas propriedades antigênicas e bioquímicas: Grupo A (*S. dysenteriae*), Grupo B (*S. flexneri*), Grupo C (*S. boydii*) e Grupo D (*S. sonnei*) (LIMA et al., 2001). Entre esses grupos são conhecidos mais de 40 sorotipos, cada um designado pelo nome da espécie seguido de um número. A *Shigella flexneri* 2 é o sorotipo mais encontrado nos pacientes de países subdesenvolvidos. São responsáveis por um quadro infeccioso agudo caracterizado por diarreia mucopiossanguinolenta, dor abdominal, tenesmo retal e febre. As shigeloses são mais comuns no verão, principalmente em crianças na faixa de seis

meses a cinco anos de idade (BUCHANAN et al., 2004). Em países desenvolvidos como por exemplo os Estados Unidos a *Shigella* é responsável cerca de 500.000 casos de diarreia anualmente (SCALLAN et al., 2011).

A infecção é adquirida pela ingestão de água ou de alimentos contaminados. Também está demonstrado que as *Shigellas* podem ser transmitidas por contato pessoal (DRANCOURT, 2017).

Medeiros e Lima (2016) realizaram testes de resistência antimicrobiana (método de difusão em disco de Kirby-Bauer), utilizando um painel de 13 antimicrobianos frente a cepas de *Shigella* spp. isoladas de crianças com diarreia em Fortaleza, Ceará. Estes autores observaram predominância de *S. flexneri* e *S. sonnei* (43%, n = 27 cada) na população, seguidas de *S. dysenteriae* (8%, n = 5) e *S. boydii* (6%, n = 4). Observou-se associação estatística entre *S. flexneri* e resistência à ampicilina e ao cloranfenicol, e entre *S. sonnei* e resistência à azitromicina. A resistência a três ou mais fármacos antimicrobianos foi associada com *S. flexneri*.

O surgimento de cepas de *Shigella* spp com menor susceptibilidade a antibióticos é um problema crescente de saúde pública o que torna necessário o descobrimento de novas fontes de fármacos (GU et al., 2012).

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Estudar o perfil fitoquímico e o potencial antimicrobiano *in vitro* do extrato etanólico da folha e fruto do Jatobá (*Hymenaea courbaril L.*), frente as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* e *Shigella flexneri*.

2.2 Objetivos específicos

- Fazer as coletas, obter o georeferenciamento e a identificação botânica da espécie vegetal *Hymenaea courbaril L.*
- Realizar a preparação das amostras das folhas e fruto (secagem, trituração) e obter os extratos brutos.
- Realizar testes fitoquímicos nas amostras das folhas e frutos para identificação de grupos de substâncias bioativas.
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos brutos pelo método de difusão em poço sobre os microrganismos *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Bacillus cereus* (ATCC 11778) e *Shigella flexneri* (ATCC 12022).
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos vegetais que apresentarem atividade antimicrobiana contra os microrganismos utilizados no estudo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL VEGETAL

3.1.1 Coleta e identificação

Folhas e frutos sadios de *Hymenaea courbaril* L. foram coletados no município de Palmas - TO, Brasil, na Universidade Federal do Tocantins próximo ao lago, na época da florada e, ou frutificação, georreferenciada com GPS Garmin 76 (10°10,669'S; 48°21,762'W), em agosto de 2017.

As herbáceas foram coletadas em sacos plásticos, tomando-se o cuidado de desprezar partes afetadas por doenças, parasitas e materiais estranhos, como partes de outras plantas (SCHULZ et al., 2002; HINDLER et al., 2004). A espécie foi identificada e uma exsicata foi depositada no Herbário Tocantins (HTO) situado no NEAMB (Núcleo de Estudos Ambientais), Campus de Porto Nacional da Universidade Federal do Tocantins sob o seguinte número de registros HTO 12009 *Hymenaea courbaril* L.

3.1.2 Preparo do material vegetal

Após a coleta os órgãos vegetais foram encaminhados para o Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada no Campus de Palmas, para dar prosseguimento à pesquisa. Primeiramente, as folhas foram cortadas com tesoura e levadas para secagem em estufa com circulação de ar (45 - 48°C) até ficarem quebradiças. Os frutos maduros foram abertos, retirada a polpa e triturados. O material foi triturado individualmente e armazenados sob refrigeração em recipiente plástico até a elaboração dos extratos. Foi elaborado extrato etanólico para a polpa do fruto e folhas (OLIVEIRA et al., 2016b com adaptações).

3.1.3 Preparo do extrato etanólico

A extração dos constituintes químicos foi realizada empregando extrator Soxhlet (SOXHLET, 1879). Para a extração a massa de material seco (folhas e fruto) foi pesada diretamente em cartuchos de celulose que foram colocados no aparelho Soxhlet.

O volume de solvente utilizado em todas as extrações foi 600 mL de etanol (PA) (VETEC) e o tempo de extração foi de 5 horas com utilização de sistema de resfriamento da água do condensador (18 °C) e concentrado em evaporador rotativo.

O sistema Soxhlet foi escolhido para obter os extratos, pois é um método padrão no qual a temperatura e a natureza do solvente determinam e favorecem a eficiência de extração dos compostos ativos. O etanol (PA) foi o solvente escolhido por ser acessível, é proveniente de uma fonte renovável, tem baixa toxicidade e é capaz de extrair uma ampla gama de compostos polares e alguns compostos não polares (BASTOS et al, 2010).

3.1.4 Triagem fitoquímica

A triagem fitoquímica foi realizada com todos os extratos em triplicatas através de testes qualitativos para a identificação da presença dos metabólitos secundários de acordo com Mattos (1997) para taninos, flavonóides, catequinas, carotenóides, ácidos orgânicos, glicosídeos cardioativos, esteróides e triterpenóides, saponinas, sesquiterpenlactonas e outras lactonas, azulenos, cumarinas, alcalóides e antraquinonas.

3.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

3.2.1 Preparo das soluções de extratos

Os extratos obtidos foram solubilizados em solução de dimetilsulfóxido (DMSO) a 10%, homogeneizado até sua completa dissolução, filtrados em papel filtro e armazenados em geladeira até o início dos experimentos (OLIVEIRA et al., 2016b com adaptações).

3.2.2 Obtenção e manutenção das cepas testadas

Foram utilizadas as cepas padrão (American Type Collection Culture - ATCC) obtidas da coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia Geral e Aplicada da Universidade Federal do Tocantins, fornecidas pelo INCQS/FIOCRUZ (Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde). As bactérias usadas foram *Staphylococcus aureus* (6538); *Escherichia coli* (25922) *Salmonella typhimurium* (14028), *Bacillus cereus* (11778) e *Shigella flexneri* (12022).

As cepas estavam armazenadas sob congelamento a -80°C em caldo Brain Heart Infusion (BHI) com 20% de glicerol. Para reativação foram repicadas em caldo Mueller Hinton e incubadas por 24 horas a 36°C em estufa bacteriológica. Posteriormente, foram repicadas para tubos de ágar Nutriente inclinado incubadas por 24 horas a 36°C e armazenadas em geladeira a temperatura de $2-8^{\circ}\text{C}$ até o momento de preparo e padronização para os testes.

3.2.3 Preparo e padronização da suspensão bacteriana

Para o preparo do inóculo, as culturas em tubo de ágar nutriente inclinado mantidas em geladeira foram repicadas para placas de ágar Mueller Hinton e incubadas por 24 horas a 35°C . Então, foi feita uma suspensão direta utilizando-se de três a quatro colônias da cepa com uma solução salina 0,85% estéril, ajustada a turbidez com a escala 0,5 de McFarland obtendo cerca de $1,5 \times 10^8$ Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL) (NCCLS, 2003).

3.2.4 Teste de difusão por poço

Os ensaios antimicrobianos foram realizados em triplicata, através do método de difusão por poço em placas de petri contendo 50 mL de meio ágar Muller Hinton (AMH). Como controle negativo foi utilizada a solução de dimetil sulfóxido (DMSO) 10%, e para controle positivo 2 mg/mL de cloranfenicol. Com auxílio de *Swab* estéril as soluções contendo os inóculos foram semeadas na superfície das placas contendo meio de cultura e em seguida foram perfurados poços com canudo de plástico estéril de 5mm de diâmetro. Esses poços foram preenchidos com 50 μ L de cada extrato diluído em DMSO 10% e com os controles positivo e negativo (OLIVEIRA et al., 2017). Após 24 h de incubação a 37°C, os halos de inibição do crescimento microbiano foram medidos em milímetros, com auxílio de paquímetro digital modelo Starret 799. A figura 1 mostra o fluxograma do processo.

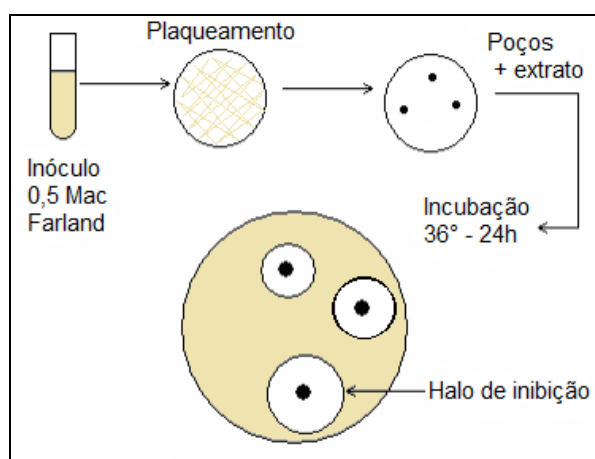


FIGURA 1: Fluxograma teste difusão por poço

3.2.5 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada como recomendado pelos Padrões de Laboratório Clínico do Subcomitê (NCCLS) utilizando a técnica de micro diluição em caldo. Os testes foram realizados em placa *Sensitive microtiter* de 96 poços esterilizada. O experimento foi realizado em triplicata, sendo que em cada microplaca foi testado o extrato para um microrganismo, conforme mostrado na Figura 02.

Adicionou-se inicialmente em cada poço 100 μL de caldo Muller Hinton (CMH) em seguida adicionaram-se os extratos realizando diluição seriada. Foram realizadas 8 diluições de cada amostra obtendo-se concentrações finais de extrato de 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,6; 0,78 mg/mL (linhas A a H). Como controle positivo foi utilizado CMH, 2 mg/mL de cloranfenicol e inóculo (coluna 5) e como controle negativo foi utilizado CMH, solvente DMSO 10%. e inóculo (coluna 7). Para controle de crescimento foi utilizada 5 μL de suspensão de bactérias 10^7 UFC/mL. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas (OLIVEIRA et al., 2016).

Realizado apenas para microrganismos que apresentaram halo de inibição no teste de difusão em poço.

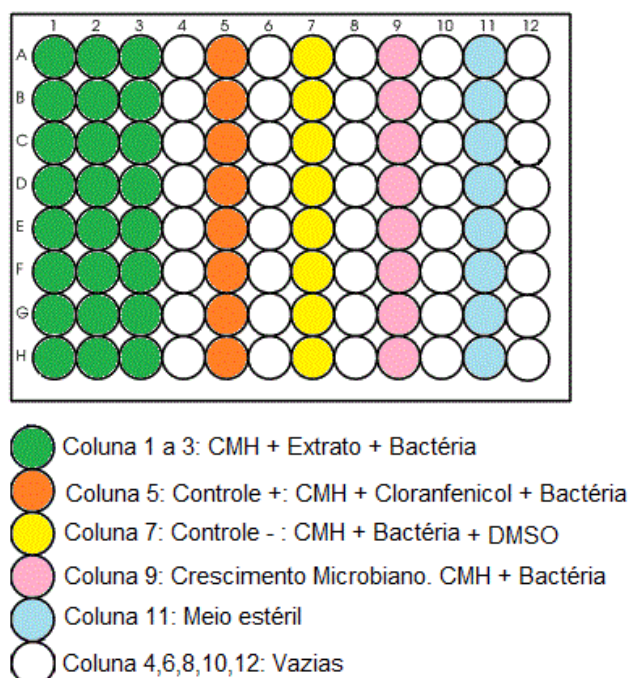


FIGURA 2. Esquema de distribuição e diluição seriada dos extratos vegetais na microplaca de 96 poços. CMH (Caldo Mueller Hinton), DMSO (dimetilsulfóxido).

3.2.6 Leitura com revelador resazurina

Decorrido o período de incubação foram adicionados em cada poço da microplaca 30 μL de resazurina a 0,03% (m/v) estéril com o objetivo de verificar por meio de leitura visual em quais poços houve crescimento bacteriano. Após aplicação do corante revelador as placas foram reincubadas por 1 hora ou o tempo necessário para a viragem do corante e então realizada a leitura, mostrando que a presença de cor azul representava ausência de crescimento e de cor rosa, presença de

crescimento bacteriano (PALOMINO et al., 2002 com modificações). Foi considerada como CIM a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento bacteriano.

3.2.7 Delineamento experimental e parcelas

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com nove tratamentos e três repetições. Avaliou-se o efeito dos isolados, dos extratos e a interação entre estes fatores, e os tratamentos que apresentaram significância foram comparados pelo teste de Tukey a 5% pelo programa AgroEstat - Sistema para Análises Estatísticas de Ensaio Agronômicos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Teste de difusão por poço

O teste de atividade antimicrobiana foi realizado com os extratos etanólicos brutos da folha e fruto de *Hymenaea courbaril* L.. O extrato bruto do fruto não apresentou nenhum halo de inibição contra as bactérias testadas, portanto não foi considerado na análise estatística. Por outro lado, a figura 3 mostra que o extrato da folha foi efetivo para as bactérias *S. aureus*, *B. cereus* e *S. flexneri* apresentando halos de inibição. Os tratamentos foram dispostos em um esquema fatorial 3 x 3, representados por três gêneros bacterianos (*S. aureus*, *B. cereus* e *S. flexneri*) e três concentrações (50, 100, 200 mg/mL). A análise de variância mostrou efeito significativo dos microrganismos em relação à concentração e concentração com controle positivo.

Tabela 1: Teste de médias dos halos de inibição em mm dos isolados *S. aureus*, *B. cereus*, *S. flexneri* após 24 h de incubação.

Microrganismo	Folha			Controle positivo
	50 mg	100 mg	200 mg	
<i>S. aureus</i>	12,42 ab C	15,95 a B	13,77 a C	26,80 a A
<i>B. cereus</i>	13,51 a C	15,33 ab B	14,59 a BC	26,28 a A
<i>S. flexneri</i>	11,50 b C	14,07 b B	15,25 a B	26,57 a A

*Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas colunas diferem entre si. *Médias seguidas de letras maiúsculas distintas na linha diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

Os halos de inibição variam de 11,50 a 15,95 (Tabela 1). Quando comparados os microrganismos dentro de cada concentração observa-se que não houve diferença significativa na concentração de 200 mg/mL, mostrando que nesta concentração todos os microrganismos foram estatisticamente iguais, com o mesmo comportamento em relação a halos de inibição. Entretanto a concentração de 50 mg/mL teve melhor inibição para *B. cereus* com 13,51 mm, e a concentração de 100 mg/mL teve melhor inibição para *S. aureus* com 15,95 mm. Isso pode ter ocorrido porque cada microrganismo reage de diferentes maneiras quando submetidos aos compostos fitoquímicos da planta, ou ainda pelo seu fator de virulência, nutrientes disponíveis ou meio de cultura utilizado, dentre outros.

Quando comparadas as concentrações com o controle (linha) percebe-se que em todas as concentrações os halos formados foram inferiores ao controle. Para *S. aureus*, a melhor concentração foi de 100 mg/mL comparada com o controle. Para *B. cereus* e *S. flexneri* a melhor concentração foi de 100 mg/mL, seguida da de 200 mg/mL. Isso implica que em relação ao controle estatisticamente a concentração de 100 e 200 mg/mL são as ideais para inibir o crescimento dos microrganismos estudados.

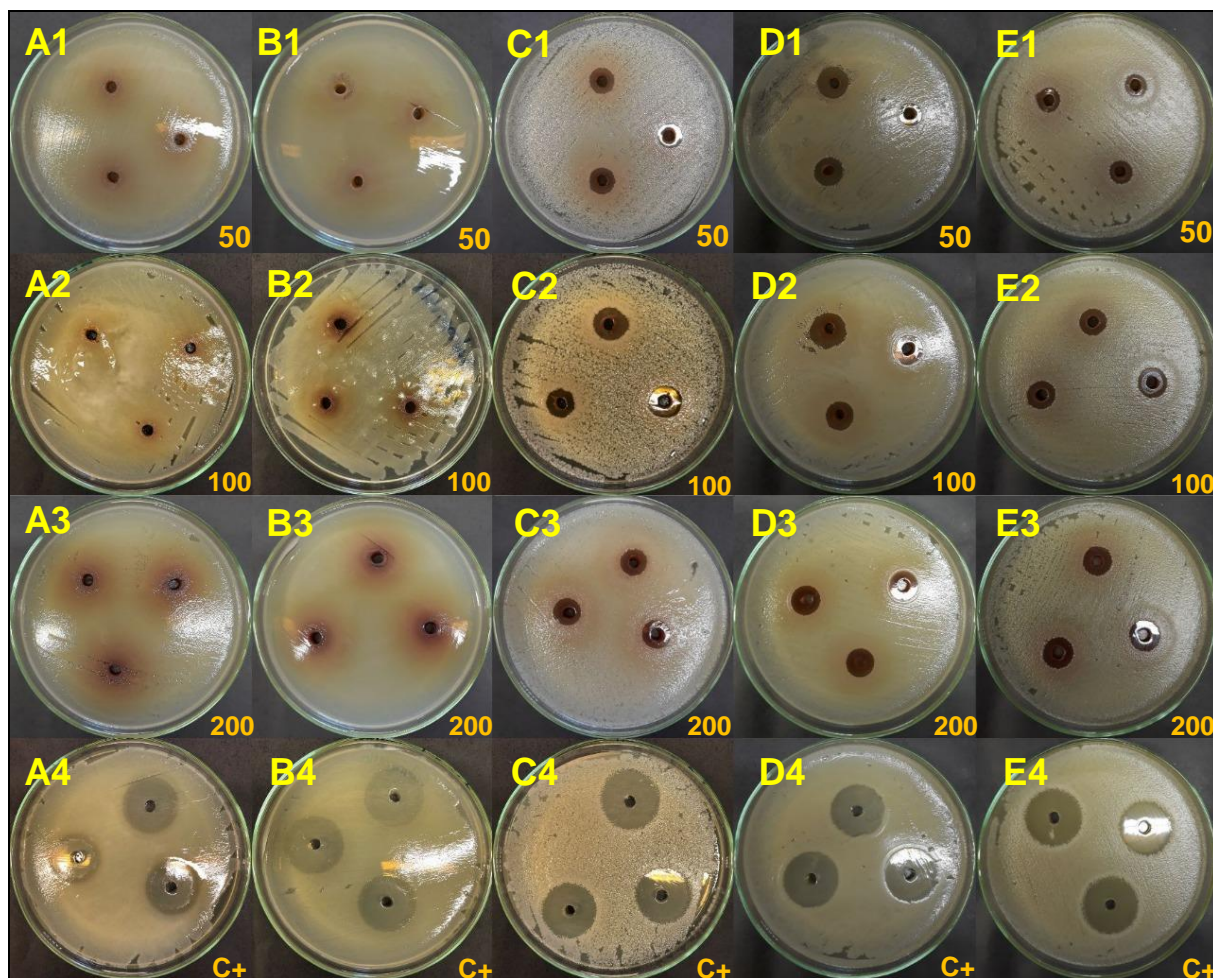


FIGURA 3. Teste de difusão em poço - Inibição do crescimento dos patógenos em meio Agar Mueller Hinton com extrato etanólico da folha de *Hymenaea courbaril* L., nas concentrações de 50, 100, e 200 mg/mL, e controle positivo (C+). (A) *Escherichia coli*, (B) *Salmonella typhimurium*, (C) *Staphylococcus aureus*, (D) *Bacillus cereus* e (E) *Shigella flexneri*. As placas foram incubadas a 37° por 24 horas em aerobiose. Fonte: o autor.

Garcia (2010) obteve resultados similares com extratos hidroetanólicos de *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa* (jatobá, casca da árvore), onde verificou atividade antibacteriana ou bactericida contra cepas de *Staphylococcus aureus* MRSA e MSSA. Esse estudo confirma os resultados encontrados neste trabalho para atividade antimicrobiana da folha do gênero *Hymenaea courbaril*.

Fernandes et al. (2015) observaram inibição em sete isolados de *E. coli* coletados de suínos em granjas do Estado de Santa Catarina, em um total de 43 (16,3%), com uma concentração média de 127,71 µg/mL de extrato hidroalcolólico da *Hymenaea courbaril*. Em nosso estudo *E. coli* não mostrou inibição para o extrato etanólico da *H. courbaril* L. talvez pela sua virulência ou pelo método utilizado não

ser tão sensível à interação do microrganismo com os compostos bioativos da planta.

Pereira et al. (2014) avaliaram a atividade antimicrobiana e o efeito de toxicidade do óleo essencial extraído da resina do jatobá, onde apresentou atividade antimicrobiana em todas as linhagens testadas, (*S. Thiphimurium*; *S. aureus*; *E. coli*; *P. aeruginosa* e *S. haemolyticus*) com maior inibição sobre a linhagem *P. aeruginosa*.

Em nosso estudo observou-se a inibição dos microrganismos testados *S. aureus*, *B. cereus* e *S. flexneri* de um total de 5 representando 60%. Não há relatos na literatura sobre a atividade antimicrobiana para as cepas de *B. cereus* e *S. flexneri* para o extrato de jatobá, caracterizando assim uma nova fonte de informações sobre a capacidade desta planta para inibir o crescimento destes patógenos.

Silva et al. (2014) estudaram a atividade antimicrobiana de extratos de *Encholirium spectabile*, *Bromelia laciniosa*, *Neoglaziovia variegata*, *Amburana cearensis*, *Hymenaea martiana* e *Selaginella convoluta*, frente a bactérias isoladas de ovelhas, mostrando que o extrato de *H. martiana* apresentou a maior atividade antimicrobiana, inibindo 70% dos isolados de *Acinetobacter* spp.. Apenas 20% das espécies de *Klebsiella* isoladas apresentou resposta inibitória para os extratos das plantas *B. laciniosa*, *S. convoluta* e *H. martiana* e todos os extratos testados apresentaram atividade antimicrobiana perante *Acinetobacter* spp e nenhuma atividade frente *E. coli* e *Enterobacter* spp.

4.2 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Os resultados da Concentração Inibitória Mínima obtidos neste estudo estão apresentados na Figura 4. Os controles negativos e de crescimento, assim como o controle positivo e de esterilidade do meio de cultura responderam aos resultados esperados, não havendo atividade para os dois controles citados primeiramente e com atividade antimicrobiana para o controle positivo e comprovada a esterilidade do meio de cultura.

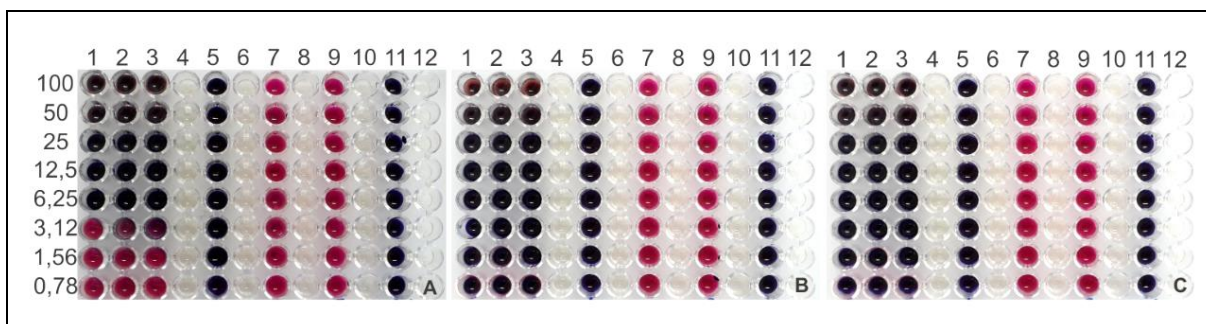


FIGURA 4. Concentração Inibitória Mínima do crescimento dos microrganismos: (A) *S. aureus*; (B) *B. cereus*; (C) *S. flexneri*, em meio Mueller Hinton e extrato etanólico da folha de *Hymenaea courbaril* L., com diluições seriadas, microrganismo + extrato (1 a 3), controle positivo (5), controle negativo (7), cultura microbiana (9), esterilidade do meio de cultura (11). Vazias (4,6,8,10,12) As placas foram incubas a 37° por 24 horas em anaerobiose. Fonte: o autor.

Dentre os microrganismos avaliados *Bacillus cereus* e *Shigella flexneri* foram inibidos na menor concentração (0,78 mg/mL), mostrando que o extrato apresenta potencial antimicrobiano no controle desses patógenos alimentares. *S. aureus* foi o que apresentou menor sensibilidade ao extrato com CIM > 6,25 mg/mL. Vários estudos confirmam resultados de maior sensibilidade de *S. aureus* aos extratos vegetais de plantas com atividade biológica, o que os diferencia dos nossos resultados (SILVA, 2007; SILVA, 2010; ARAÚJO et al., 2015; SANTOS, 2016).

As variações referentes à determinação da CIM de extratos de plantas podem ser atribuídas a vários fatores. Dentre eles podemos citar a técnica aplicada, o microrganismo e a cepa utilizada no teste, a origem da planta, a época da coleta, se os extratos foram preparados a partir de plantas frescas ou secas e a quantidade de extrato testada. Assim, não existe método padronizado para expressar os resultados de testes antimicrobianos de produtos naturais (FENNEL et al., 2004).

Fernandes et al. (2005) estudaram o potencial do extrato da casca do fruto de *H. courbaril* e descobriram que ele apresentou atividade antimicrobiana para 54% dos isolados de *S. aureus* na concentração de 2,5 mg/mL, mas não inibiram os microrganismos Gram-negativos testados. Esses resultados vêm de encontro a nossos estudos, que mostrou a inibição de microrganismos Gram-negativos testados comprovando a eficácia da atividade bacteriana da folha de jatobá. Segundo Bylka et al. (2004) a camada de peptidoglicano na parede celular das bactérias Gram-positivas é mais espessa, enquanto que nas Gram-negativas é mais fina. Além disso, as Gram-negativas apresentam duas membranas, sendo uma delas externa

ao peptidoglicano. Estas diferenças estruturais resultam em diferentes susceptibilidades a uma variedade de antibióticos que tem as estruturas de contorno celular como sítios de ação.

Souza et al. (2004) encontraram 54% de inibição de cepas de *Staphylococcus* sp com extrato bruto de metanol de *H. courbaril* obtendo CIM de 2,5 mg/mL. Fernandes et al. (2005) encontraram 63,3 % de inibição das espécies bacterias Gram-positivas com concentrações estimadas de 1,25 mg/mL, relatados para a mesma espécie. Esses valores confirmam os achados em nosso trabalho que apresentou valores menores em concentração para essas bactérias.

Garcia et al. (2011) encontraram que a Concentração Bactericida Mínima (CBM) do extrato hidroetanólicos de *H. courbaril* obteve 98,1% de inibição das cepas de *Staphylococcus aureus*.

O extrato etanólico bruto (EEB) da folha da *Hymenaea martiana* Hayne teve sua ação bactericida avaliada *in vitro*, observando-se atividade frente a isolados de *S. aureus* e *S. epidermidis*, bactérias comumente causadoras de mastite caprina, onde 50% dos isolados apresentaram valor de CBM chegando até 781,25 µg/mL quando diluídos em água destilada autoclavada. Já quando a diluição foi realizada com etanol, a CBM foi de 390,6µg/mL. Os produtos naturais têm melhor ação sobre as bactérias Gram-positivas, podendo atuar de modo diferenciado nos microrganismos (VIEIRA et al., 2018).

De maneira geral, com os resultados obtidos neste trabalho, observamos que o jatobá tem potencial de uso para elaboração de novos produtos com atividade antimicrobiana frente as bactérias testadas.

4.4 Análise de fitoquímicos

A análise de fitoquímicos permite avaliar qualitativamente a composição do extrato em estudo. Na Tabela 2 apresenta-se o resultado expresso em presença ou ausência dos compostos bioativos pesquisados no extrato da planta avaliada. Esta análise não foi realizada no extrato do fruto, pois este extrato não apresentou um potencial de inibição contra os patógenos testados.

TABELA 2 - Resultado da triagem fitoquímica realizada no extrato etanólico de *Hymenea Courbaril* L.

Compostos Fitoquímicos	<i>Hymenea courbaril</i> L (EE)
	Folha
Ácidos orgânicos	-
Catequinas	-
Flavonóides	-
Glicosídeos Cardioativos	-
Sesquiterpenlactonas	-
Azulenos	-
Carotenóides	+
Esteróis e Triterpenóides	+
Cumarinas	-
Saponinas	+
Alcalóides	+
Antraquinonas	-
Taninos	+

EE: Extrato Etanólico; + presença; - ausência;

Observa-se na tabela 2 que o extrato etanólico da folha de jatobá, apresenta resultados negativos para ácidos orgânicos, catequinas, flavonóides, glicosídeos cardioativos, sesquiterpenlactonas, azulenos, cumarinas e antraquinonas. Contudo os resultados negativos aqui apresentados não indicam necessariamente a sua ausência, é possível que a quantidade dos mesmos seja muito baixa para ser encontrada pelo método de triagem fitoquímica utilizado (BRUM et al., 2011). A concentração de princípios ativos na planta depende muito de fatores intrínsecos e extrínsecos como, por exemplo, genética, fatores climáticos, edáficos, exposições a microrganismos, insetos, poluentes e outros (BRAZ-FILHO, 2010).

Dentre os metabólitos avaliados o teste foi positivo para carotenóides, saponinas, alcalóides, taninos, esteróis e triterpenóides. Esses compostos são de grande importância por apresentarem potencial antimicrobiano, fungicida, antioxidante e cicatrizante (COWAN, 1999; LEWIS; AUSUBEL, 2006; SARAIVA et al., 2014).

Cada substância apresenta características distintas, como por exemplo, os carotenóides tem função antioxidante e estes desempenham um papel importante na redução do risco de câncer, catarata, arteriosclerose e no processo de envelhecimento (DAMODARAN et al., 2008). Carotenóides tem função de inibir que os radicais livres danifiquem as paredes das membranas lipoproteicas (SILVA et al., 2016).

Os compostos pertencentes à classe das saponinas além de apresentar em ação antioxidante e antifúngica, possuem atividade citotóxica contra tumores (PEREIRA et al., 2018; BARBOSA et al., 2017). Essa substância, sob o aspecto de investigação de atividade antimicrobiana, é considerada muito importante por apresentar esse potencial confirmado (SANTOS, 2016).

Os alcalóides são utilizados pela indústria farmacêutica em medicamentos como estimulante do sistema nervoso central. São reconhecidos pelo seu amplo espectro de atividades biológicas, por isso correspondem a princípios ativos comuns em plantas medicinais (REZENDE et al., 2017). Essas substâncias podem também proteger algumas plantas da destruição por certas espécies de insetos (VIEIRA e RAMOS, 2018).

Os taninos podem ter ação antiulcerogênica e anti-gástrica, ajudando na recuperação de doenças gástricas, formando uma camada protetora sobre a mucosa gástrica ou da pele, protegendo e favorecendo a recuperação natural do organismo, sendo também um agente bactericida, fungicida, antiviral, citotóxico, cicatrizante, antimutagênico, inibidor de várias enzimas e da peroxidação lipídica e sequestrador de radicais livres (FREITAS et al., 2017; SIMÕES et al., 2017). Santos (2016) encontrou resultado positivo para a ação antimicrobiana deste composto bioativo, validando assim os resultados encontrados em nosso estudo.

Esteróis e triterpenos são precursores de uma variedade de compostos com atividade biológica, como a atividade antimicrobiana e anti-inflamatória (GONZÁLEZ et al., 1996; REYES et al., 2006; OLIVEIRA, 2015).

No trabalho de Vencato et al., (2016) foi avaliado o perfil fitoquímico e a atividade antioxidante do extrato aquoso das cascas de *Hymenaea courbaril*. A análise fitoquímica indicou a presença de flavonoides, saponinas e taninos além de altos teores de compostos fenólicos e rutina. Esses resultados comprovam a importância de se conhecer os compostos fitoquímicos da planta, como também alguns compostos bioativos encontrados em nosso estudo.

A análise fitoquímica por cromatografia em camada delgada de extratos das folhas de *Hymenaea courbaril* L. revelaram a presença de terpenos, flavonoides, triterpenos, taninos, cumarinas e açúcares redutores, corroborando com os resultados encontrados em nosso trabalho (MERCÊS et al., 2015).

4 CONCLUSÃO

De cinco espécies de microrganismo, três (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, e *Shigella flexneri*) apresentaram atividade antimicrobiana pelo teste preliminar de difusão por poço para o extrato da folha. O extrato etanólico do fruto não apresentou atividade antimicrobiana frente aos patógenos de origem alimentar. A CIM para *S. aureus* foi de valores $> 6,25$ mg/mL e para *S. flexneri* e *B. cereus* houve inibição na $<$ concentração testada (0,78 mg/mL), mostrando que o extrato etanólico de folhas de jatobá apresenta potencial para ser utilizado como alternativa natural ao controle desses patógenos alimentares.

5 REFERÊNCIAS

AgroEstat - Sistema para Análises Estatísticas de Ensaio Agronômicos. José Carlos Barbosa, Walter Maldonado Junior. FCAV - UNESP - Campus de Jaboticabal.

AGOPIAN, T. K. D.; SERAVALLI, E. A. G.. **Utilização da farinha de jatobá (*hymenacea stigonocarpa* mart.) Na fabricação de pão de forma.** Escola de Engenharia de Mauá (EEM / CEUN-IMT) mar. 2015.

ALMEIDA, FERNANDA de. Caracterização molecular de linhagens de *Salmonella* Typhimurium isoladas de humanos, alimentos, animais e ambiente no Brasil. **Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto.** Ribeirão Preto, 2016.

ALMEIDA, E. R. **Plantas medicinais brasileiras: conhecimentos populares e científicos.** São Paulo: Hemus, p. 341. 1993.

ALMEIDA, M. B.; SOUZA, W. C. O.; GOMES, E. C. S.; VILLAR, F. C. R. **Descrição morfológica do fruto e semente do jatobá (*Hymenaea courbaril* L.).** Revista Semiárido De Visu, v. 1, n. 2, p. 107-115, 2011.

ALMEIDA, M. S. C.; MENDONÇA, R. DE L.; FREITAS, M Z C.; VANDESMET, L. C. *Staphylococcus aureus*. **Mostra Científica em Biomedicina**, Volume 1, Número 01, Jun. 2016.

AMSON, G. V.; HARACEMIV, S. M. C.; MASSON, M. L.; Levantamento de dados epidemiológicos relativos às ocorrências/surtos de doenças transmitidas por alimentos (dtas) no estado do paraná – brasil, no período de 1978 a 2000. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1139-1145, nov./dez., 2006.

ARAÚJO, E. R. D.; OLIVEIRA, D. C.; SOARES, T. C.; LANGASSNER, S. M. Z.; TAVARES, J. C. M.; SILVA, D. G. K. C. Avaliação do potencial antimicrobiano de extrato hidroalcoólico e aquoso da espécie *Anadenanthera colubrina* frente à bactérias gram negativa e gram positiva. **Biota Amazônia**, v. 5, n. 3, p. 66-71, 2015.

BARBOSA, H.M.; ALBINO, A.M.; CAVALCANTE, F.S.; LIMA, R.A. Abordagem fitoquímica de metabólitos secundários em *Solanum acanthodes* (solanaceae) hook. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 4, n. 1, 2017.

BASTOS J.F.A.; MOREIRA I.J.A.; RIBEIRO T.P.; Hypotensive and vasorelaxant effects of citronellol, a monoterpene alcohol in rats. **Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.** 106(4): 331–337. 2010.

BENNETT L.; KITTAS A.; MUIRHEAD, G.; PAPAGEORGIOU L. G.; TSOKA S.. Detection of composite communities in multiplex biological networks. *Sci Rep* 5:10345.. 2015.

BOTTONE, E. J. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. **Clinical microbiology reviews**, v. 23(2), p. 382-398, 2010.

BRAGA, R. **Plantas do nordeste, especialmente do Ceará**. 2. ed. Fortaleza: Imprensa Oficial, p 540, 1960.

BRASIL. Decreto-lei nº 7.841, de 08 de agosto de 1945. Código de águas minerais. Diário oficial da União, Brasília, DF, 20 ago. 1945. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccvil_03/decreto-lei/1946/De17841.htm. Acesso em: 10 jul. 2016a.

BRASIL. Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950. Dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária dos produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 19 dez. 1950. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L1283.htm. Acesso em: 10 jul. 2016b.

BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

BRUM, S. S.; SANTOS, V. V.; DESTRO, P.; GUERREIRO, M. C. Esterificação de ácidos graxos utilizando zircônia sulfatada e compósitos carvão ativado/zircônia sulfatada como catalisadores. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1511-1516, 2011.

BUCHANAN, R.E., GIBBONS, N.E. **BERGEYS Manual of Determinative Bacteriology**, 8.ed., Baltimore, The Williams & Wilkins, 1975 Publicado no livro **Linguagem Médica**, 3a. ed., Goiânia, AB Editora e Distribuidora de Livros Ltda, 2004.

BYLKA, W.; MATLAWSKA, I.; PILEWSKI, N. A. **Natural flavonoids as antimicrobial agents**. **JANA**, v. 7, n. 2, p. 24 - 31, 2004.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. 7. ed. Belém, PA: CNPq: Museu Paraense Emilio Goeldi, p. 280 (Coleção Adolfo Ducke). 2010.

CÂMARA, MARCELO. **Cachaça: prazer brasileiro**/Marcelo Câmara. – Rio de Janeiro: Mauad, p. 53, 2004.

CEUPPENS, S.; BOON, N.; UYTTENDAELE, M. Diversity of *Bacillus cereus* group strains is reflected in their broad range of pathogenicity and diverse ecological lifestyles. **FEMS Microbiology Ecology**, v.84, p.433-50, 2013.

CHITECULO, V.; BRUNEROVÁ, A.; SUROVÝ, P.; BROŽEK, M. **Management of Brazilian hardwood species (Jatoba and Garapa) wood waste biomass utilization for energy production purposes**. *Agronomy Research*, Vol.16 (2), p.365-377. 2018.

COBURN, B.; GRASSL, G.A.; FINLAY, B.B. *Salmonella*, the host and disease: a brief review. **Immunology and Cell Biology**, v.85, p.112-118, 2007.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

CRAVEIRO, A. A. E. A.; Óleos Essenciais de Plantas do Nordeste. Fortaleza, p. 210, 1981.

CRUZ, E. D.; PEREIRA, A. G.; Germinação de sementes de espécies amazônicas: jatobá (*Hymenaea courbaril* L.). **Comunicado Técnico**. Belém, PA, n. 263 ISSN 1983-0505, jan. 2012 Disponível em: <
<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/122568/1/COM-263.pdf> >.
Acesso em: 03 set. 2018.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.; FENNEMA, O. R. Fennema's food chemistry. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, p.11-44, 2008.

DANTAS, STÉFANI THAIS ALVES. Caracterização molecular e da virulência de cepas de *Salmonella* spp. isoladas em uma planta de abate de aves. **Tese de doutorado. Pós-graduação**, Biologia Geral e Aplicada – IBB. Botucatu, 2018.

DAS K, TIWARI RKS, SHRIVASTAVA DK. Técnicas para avaliação de produtos fitoterápicos como agentes antimicrobianos: métodos atuais e tendências futuras. J Med Plants Res. 4: 104–11. 2010.

DOS ANJOS, M. M; DA SILVA, A. A.; DE PASCOLI, I. C.; MIKCHA, J. M. G.; JUNIOR, M. M.; PERALTA, R. M.; FILHO, B. A. **Antibacterial activity of papain and bromelain on Alicyclobacillus spp.** International Journal of Food Microbiology, v. 216, p. 121–126, 2016.

DRANCOURT, MICHEL.; Diarreia Aguda - Infecção por *Shigella* **Doenças Infeciosas** (Quarta Edição), 2017.

DUCKE, A. Notas sobre a flora neotrópica: II. **As leguminosas da Amazônia brasileira**. 2. ed. rev. aum. Boletim Técnico. IAN, Belém, PA, n. 18, p. 1-246, dez. 1949.

ELISHA I. L.; BOTH A F. S.; GAW. L. J. M.; ELOFF J. N. The antibacterial activity of extracts of nine plant species with good activity against *Escherichia coli* against five other bacteria and cytotoxicity of extracts. **BMC Complementary and Alternative**

Medicine. ISSN: 1472-6882. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1645-z>. 28 fevereiro 2017.

FARIAS, C. P.; CROISFELT, F. M.; BAFFI, M. A.; Qualidade microbiológica do leite cru in natura, leite cru refrigerado e leite pasteurizado comercializados na região de Uberlândia, MG. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável.** ARTIGO CIENTÍFICO. Acesso em: 01/12/2018. Disponível em: <http://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS>

FARMACOPÉIA BRASILEIRA 2000. 4. ed. São Paulo, **Atheneu.**

FERNANDES TT, DOS SANTOS ATF, PIMENTA FC. Atividade Antimicrobiana das Plantas *Plathymenia reticulata*, *Hymenaea courbaril* e *Guazuma ulmifolia*. **Rev Patol Trop.**, 2005; 34 (2), p. 113-22.

FERNANDES, A.W.C.; AQUINO, S.Á.M.C.; GOUVEIA, G.V.; ALMEIDA, J.R.G.S.; COSTA, M.M. Atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos de plantas do bioma caatinga em isolados de *Escherichia coli* de suínos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.17, n.4, supl. III, p.1097-1102, 2015.

FENNEL CW, LINDSEY KL, MC GAW LJ, SPARG SG, STAFFORD GI, ELGORASHI EE, GRACE OM, VAN STADEN J.; Review: Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: Pharmacological screening and toxicology. *J. Ethnopharmacol* 94: 205-217, 2004

FERREIRA, J. DE A. F.; Panorama das doenças transmitidas por alimentos no Brasil entre 2000 e 2015 - Contaminação de Alimentos Enfermidades Transmitidas por Alimentos Surto Alimentares. **Nutrition in Public Health**, São Paulo, 2017.

FERNANDES, T. T.; SANTOS, A. T. F. DOS; PIMENTA, F. C.; Atividade antimicrobiana das plantas *Plathymenia reticulata*, *Hymenaea courbaril* e *Guazuma ulmifolia*. v. 34, n. 2, p. 113-122, 2005.

FERREIRA T., FRANCO R. M., OLIVEIRA L.A.T., CARVALHO J.C.A.P & GONÇALVES P.M.R. 1996. Sensibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas de Produtos de Origem Animal (POA) e salmoura. Anais Congresso Panamericano de Ciências Veterinárias, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, p.285.

FIGUEIRA, L W.; OLIVEIRA, J R DE.; SPER, F L.; MECCATTI, V M.; OLIVEIRA, L DE.; OLIVEIRA L D DE.; EXTRATO DE CHÁ VERDE (*Camellia sinensis*) PROMOVE AÇÃO ANTIMICROBIANA SOBRE *Staphylococcus aureus*. v. 22, n. 40, 2016.

(FDA), Food and Drug Administration, 2012. Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. Second Edition. Capítulo de *Staphylococcus aureus*, pp. 87-92. [Online] Disponível no site: <http://www.fda.gov/Food/FoodbornIllnessContaminants/CausesOfIllnessBadBugBook/> [acesso em 02/12/2015].

FORSYTHE, STEPHEN J.; Microbiologia da Segurança dos Alimentos. School of Science and Technology, Nottingham Trent University. 2º Edição. Editora Artmed, 2013.

FRACAROLLI, I.F. L. OLIVEIRA, S. A. DE.; MARZIALE, M. H. P.; Colonização bacteriana e resistência antimicrobiana em trabalhadores de saúde: revisão integrativa. **Acta Paul Enferm.** 2017; 30(6):651-7.

FRANCO, R. M.; MANTILLA, S. P. S.; GOUVÊA, R.; OLIVEIRA, L. A. T. de.; resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de carne e dejetos suínos. **Acta Veterinária Brasileira**, v.4, n.1, p.31-36, 2010.

FREITAS, J.B.DE; OLIVEIRA, M.L.DE; LIMA, E.O.; LIMA, S. DE A. M.; PESSOA, C.V.; *Maytenus ilicifolia* e sua ação gastroprotetora: revisão de literatura. **Unicatólica, mostra científica da Farmácia**, ISSN: 2358-914. v. 4, n. 2, 2017.

FLORES, A. M. P. C.; MELO, C. B. Principais bactérias causadoras de doenças de origem alimentar. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Brasília, Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, ICC Sul, Asa Norte, p. 65-72, jan./mar. 2015.

GARCIA, C. S.; Ação Antibacteriana *In Vitro* De Extratos Hidroetanólicos De Plantas Sobre *Staphylococcus Aureus* Mrsa E Mssa. (**Dissertação Mestrado**). SÃO PAULO, 2010.

GARCIA, C.S.; UEDA, S.M.Y.; MIMICA, L.M.J.; Avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* de extratos hidroetanólicos de plantas sobre *Staphylococcus aureus* MRSA e MSSA. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v.70, n.4, p.589-98. 2011.

GONZÁLEZ, A. G.; ALVARENGA, N. L.; RAVELO, A. G.; BAZZOCCHI, I. L.; FERRO, E. A.; NAVARRO, A. G.; MOUJIR, L. M. Scutione, a new bioactive norquinonemethide triterpene from *Maytenus scutiodes* (Celastraceae). *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 1996, 4, 815. [CrossRef] [PubMed]

GOLDMAN, LEE.; SCHAFER, ANDREW I.; Goldman-Cecil Medicina: Adaptado à realidade brasileira. **Elsevier Brasil**, 15 de mar de 2018.

GU, B.; CAO, Y.; PAN, S.; ZHUANG L.; YU, R.; PENG, Z.; QIAN, H.; WEI, Y.; ZHAO, L.; LIU, G.; TONG, MINGQING. Comparação da prevalência e alteração da resistência ao ácido nalidíxico e ciprofloxacina de *Shigella* entre a Europa – América e Ásia – África de 1998 a 2009. **International journal of antimicrobial agents**. Volume 40, Edição 1, Páginas 9–17, 2012.

HARRIS, L. G; FOSTER, S.J.; RICHARDS, R.G. Anintroductionto *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifyingand quantifying *S. aureus* adhesins in relations to adhesion to biomaterials: Review. **European Cells and Materials**. v.4, n.2, p.39-60, 2002.

HENNEKINNE, J.-A.; BUYSER, M.-L.; DRAGACCI, S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. **FEMS Microbiology Reviews**. v.36, n.4, p.815-836, 2012.

HILL, S. M.; PHILLIPS, A. D.; WALKER-SMITH, J. A. Antibiotics for *Escherichia coli* gastroenteritis. **Lancet**, v. I, p.771-772, 1988.

HINDLER JF, MUNRO S. Antimicrobial Susceptibility Testing. In: Isenberg HD. **Clinical Microbiology Procedures Handbook** [CD-ROM]. 2nd ed. ASM Press; 2004.

LORENZI, H.; MATOS F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil**, Nativo e Exótico, Instituto Plantarum, Nova Odessa, SP, Brasil, 2002.

IZADI, Z.; SHEIKH-ZEINODDIN, M.; ENSAFI, A.A.; SOLEIMANIAN-ZAD, S. Fabrication of an electrochemical DNA-based biosensor for *Bacillus cereus* detection in milk and infant formula. **Biosensors and Bioelectronics**, v.80, p.582-589, 2016.

KALITA, ANJANA; HU, JIA; TORRES, ALFREDO. **Recent advances in adherence and invasion of pathogenic *Escherichia coli***. *Curr Opin Infect Dis* v. 27, n. 5, p. 459–64, 2014.

KUMARI, S.; SARKAR, P. K. *Bacillus cereus* hazard and control in industrial dairy processing environment. **Food Control**, v. 69, p. 20-29, 2016.

LACERDA, L. P.; MALAQUIAS, G.; PERON, A. P. **Antiproliferative Action of Aqueous Extracts of *Hymenaea stigonocarpa* Mart. (Fabaceae) on the Cell Cycle of *Allium Cepa* L.** *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 86, p. 24-31, 2014.

LEWIS, K.; AUSUBEL, F. M. Prospects for plant derived antibacterials. **Nature Biotechnology**, v. 24, n. 12, p. 1504-1507, 2006.

LIMA A. O., SOARES J. B., GRECO L. B., et al. **Métodos de laboratório aplicados à clínica: técnica e interpretação** 8ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

LIMA, H. C. de; PINTO, R. B. *Hymenaea*. In: **LISTA de Espécies da Flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: Acesso em: 12 dez. 2014.

LUCYSZYN, N.; LUBAMBO, A. F.; MATOS, K. F.; MARVILLA, I.; SOUZA, C. F.; SIERAKOWSKI, M. R. **Specific modification of xyloglucan from *Hymenaea courbaril* seeds.** Material Science and Engineering C, v. 29, p. 552-558, 2009.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D.H.; STAHL, D.A.; **Microbiologia de Brock:** controle químico do crescimento microbiano. 14ª ed. Porto Alegre. Brasil: Simone de Fraga, p. 176, 2016.

MARQUES, T. S.; PEREIRA, D. T. M.; ABREU, A. S.; SOUZA, M. A. S. DE.; Determinação do perfil fitoquímico e avaliação das atividades biológicas de extrato da espécie *Scleronema micranthum* da família Bombacaceae. **Revista Fitos**, [S.I.], v. 10, n. 4, p. 433-445, maio 2017.

MARTINS, J. E. C. **Plantas medicinais de uso na Amazônia.** Belém: Cultural CEJUP, p. 107, 1989.

MARTINS JÚNIOR; IVAN RUBENS. Pesquisa de anticorpos anti-*salmonella gallinarum* e *salmonella pullorum* em galinhas caipiras no município de areia – pb. TCC - Medicina Veterinária, Universidade Federal da Paraíba. Jul 2018.

MATOS, F. J. A.; Introdução à fitoquímica experimental. Fortaleza: **UFC**, 2.ª ed., 141 p., 1997.

MAZIERO, M. T. M.; VIANA, C.; MONTANHINI NETO, R., PINTO, J. P. A. N., BERSOT, L. S. Incidence and lipolytic and proteolytic activity of *Bacillus cereus* in UHT milk. Anais... **4th International Congress on Bioprocess in Food Industries**, Curitiba, Paraná, 2010.

MEDEIROS, P. H. Q. S. DE.; Caracterização molecular da virulência e perfil de resistência antimicrobiana de cepas de *shigella* spp isoladas de crianças com diarreia moderada a severa na cidade de fortaleza-ce, Brasil. **Dissertação (mestrado)** Microbiologia Médica da Universidade Federal do Ceará da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

MELO, M. da G. G. de; MENDES, A. M. da S. **Jatobá: *Hymenaea courbaril* L.** Manaus: INPA, Não paginado. (Informativo técnico rede de sementes da Amazônia, 9). 2005.

MENDES, R. A.; COELHO, A. Í. M.; AZEREDO, R. M. C. DE.; Contaminação por *Bacillus cereus* em superfícies de equipamentos e utensílios em unidade de alimentação e nutrição. **Ciência & Saúde Coletiva**, Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa MG, 2011.

MERCÊS, P. F. F. DAS. ; BESSA, C. M. DA S. ; SILVA, A. G. DA ; RAMOS, B. DE A. ; SILVA, A. P. S. DA ; ARAÚJO, D. R. C. DE ; LIMA, V. L. DE M. ; SIVA, M. V. DA ; CORREIA, M. T. DOS S. ; OLIVA, M. L. V. Perfil fitoquímico e ação *antifúngica in vitro* de extratos das folhas de *Hymenaea courbaril* L. var. courbaril frente a fitopatogênicos. (Apresentação de Trabalho/Simpósio). 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da *Salmonella* spp. Brasília – DF 2011.

MOLS, M.; CERAGIOLI, M.; ABEE, T. Heat stress leads to superoxide formation in *Bacillus cereus* detected using the fluorescent probe MitoSOX. **International Journal of Food Microbiology**, v.151, n.1, p.199-122, 2011.

MORAES, C. B. de; UESUGI, G.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; GUERRINI, I. A.; MORI, E. S. Influência de biorreguladores no crescimento de *Hymenaea courbaril*. **Revista do Instituto Florestal**, v. 25, n. 2, p. 223-229, 2013. Nota científica.

MORAIS, E. J. F.; ARAÚJO, J. M. D. DE.; NETA, M. L. P. M.; ARRUDA, L. C. S.; FARIAS, J. T. F. DE.; PONTES, E. D. S.; OLIVEIRA, N. D. DE.; Importância do Controle Microbiológico com Relação às Doenças Transmitidas Por Alimentos. **International Journal of Nutrology** 2018;

MURRAY, PATRICK R.; ROSENTHAL, KEN S.; PFALLER, MICHAEL A. **Microbiologia Médica**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 (ISBN 1-56238-486-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

OLIVEIRA, E., *Esteróis*, **Revista de Ciência Elementar**, V3(3):185 Acesso em 04/12/2018. DOI <http://doi.org/10.24927/rce2015.185>. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, 2015.

OLIVEIRA, G. R. F.; SILVA, M. S.; MARCIANO, T. Y. F.; PROENÇA, S. L.; SÁ, M. E. Crescimento inicial do feijoeiro em função do vigor de sementes e inoculação com *Bacillus subtilis* / early growth of common bean plants in response to vigour seeds and inoculation with *Bacillus subtilis*. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 10(4), p. 439-448, 2016a.

OLIVEIRA, A. I. T. DE; MAHMOUD, T. S.; NASCIMENTO, G. N. L. DO; SILVA, J. F. M. DA; PIMENTA, R. S.; MORAIS, P. B. DE. Chemical Composition and Antimicrobial Potential of Palm Leaf Extracts from Babaçu (*Attalea speciosa*), Buriti (*Mauritia flexuosa*), and Macaúba (*Acrocomia aculeata*). **The Scientific World Journal**, v. 2016, p. 1-5, 2016b.

OLIVEIRA, A. I. T.; CABRAL, J. B. ; MAHMOUD, T. S. ; NASCIMENTO, G. N. L. DO ; SILVA, J. F. M. DA ; PIMENTA, R. S. ; MORAIS, P. B. . In vitro antimicrobial activity and fatty acid composition through gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) of ethanol extracts of *Mauritia flexuosa* (Buriti) fruits. **JOURNAL OF MEDICINAL PLANT RESEARCH**, v. 11, p. 635-641, 2017.

ORGANJI, S.R.; ABULREESH, H.H.; ELBANNA, K.; OSMAN, G.E.H.; KHIDER, M. Occurrence and characterization of toxigenic *Bacillus cereus* in food and infant feces. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.5, n.7, p.515-520, 2015.

PALOMINO, J.C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin Microtiter Assay Plate: simple and inexpensive method for

detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 8, p. 2720-2722, 2002.

PARROTA, J. A.; FRANCIS, J. A.; ALMEIDA, R. R. de. **Trees of the Tapajós: a photographic field guide**. Rio Piedras: USDA, Forest Service, International Institute of Tropical Forestry, 371 p. (IITF. General Technical Report, 1). 1995.

PEREIRA C. K. B.; RODRIGUES, FABIOLA F. G.; MOTA, MAGALY L.; SOUSA, ERLANIO O. DE.; LEITE, GERLANIA O.; BARROS, ADRIANA R. C.; LEMOS, TELMA L. G.; COSTA, JOSE G. M. DA.; Composição química, atividade antimicrobiana e toxicidade do óleo essencial de *Hymenaea courbaril* (jatobá). **Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**, 2014.

PEREIRA, R.; NASCIMENTO, M. F. DO.; MACIEL, D. R.; JULIÃO, M. S. DA S.; SANTOS, H. S.; MORAIS, S. M. DE.; FONTENELLE, R. O. DOS S.; Abordagem fitoquímica do extrato etanólico da casca de *Myroxylon peruiferum* Lf. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 16, n. 1, 2018.

PHE – Public Health England. **UK Standards for Microbiology Investigations**. Standards Unit [S.I: s.n.], Inglaterra, 2015.

RANOLFI, THIAGO.; Perfil De Sensibilidade *In Vitro* De *Escherichia Coli* Isolados De Alimentos De Origem Animal. (Trabalho de conclusão de curso). Londrina, 2014.

REYES, C. P.; NÚÑEZ, M. J.; JIMÉNEZ, I. A.; BUSSEROLLES, J.; ALCARAZ, M. J.; BAZZOCCHI, I. L. Activity of lupane triterpenoids from *Maytenus* species as inhibitors of nitric oxide and prostaglandin E2. **Bioorganic & Medicinal Chemistry** 2006, 14, 1573. [CrossRef] [PubMed]

REZENDE, F. M.; ROSADO, D.; MOREIRA, F. A.; CARVALHO, W. R. S. Vias de síntese de metabólitos secundários em plantas. VII BOTÂNICA NO INVERNO 2017. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, **Departamento de Botânica**, 2017. 332 p.

RIZZINI, C. T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil: Manual de dendrologia brasileira**. São Paulo: Editora E. Blücher, p.294, 1971.

ROGERS KARA. *E. coli*. NEW Britannica Academic. Encyclopædia Britannica, Inc. 2011.

ROJAS, M. R.; MARTINA, A. M. S. **Manual de identificación de especies forestales de la subregión Andina**. Lima: Instituto Nacional de Investigación Agraria: Organización Internacional de las Maderas Tropicales, p. 489. 1996.

SAMAPUNDO, S.; HEYNDRICKX, M.; XHAFERI, R.; DEVLIEGHERE, F. Incidence, diversity and toxin gene characteristics of *Bacillus cereus* group strains isolated from food products marketed in Belgium. **International Journal of Food Microbiology**, v.150, p.34-41, 2011.

SANTANA, E.H.W.; BELOTI, V.; ARAGONALEGRO, L.C.; MENDONÇA, M.B.O.C. *Estafilococos em alimentos*. **Arquivos do Instituto Biológico**.v. 77, n.3, p.545–554, 2010.

SANTOS M. M. S. Atividade Antimicrobiana *In Vitro* De Extratos De Três Plantas Medicinais Do Tocantins Sobre Patógenos De Origem Alimentar (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* Typhimurium). **Dissertação Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Palmas - TO, 2016.

SARAIVA, L.C.F.; MAIA, W.M.N.; LEAL, F.R.; FILHO, A.L.M.M.; FEITOSA, C.M.; Phytochemical screening of *Moringa oleifera* leaves. **Informative Geum Bulletin**, v.9, n. 2, p.12-19, abr./jun., Universidade Federal do Piauí – UFPI, 2014.

SCALLAN E, HOEKSTRA RM, ANGULO FJ, TAUXE RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM. Foodborne illness acquired in the United States - major pathogens. **Emerg Infect Dis**. 2011; 17 (1): 7-15.

SCHLEIFER, K & BELL, J. A., 2009b. Genus I *Staphylococcus* Rosenbach 1884. In: DeVOS, P., GARRITY, G.M., JONES, D. *et al.* (eds.) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2 edition, Volume 3. New York Springer. Pp. 392-421.

SCHULZ V, HÄNSEL R, TYLER VE. Fitoterapia Racional: Um Guia de Fitoterapia para as Ciências da Saúde. 4ª ed, **Ed. Manole**; 2002; p. 1-40

SHANLEY, P. Jatobá: *Hymenaea courbaril* L. In: SHANLEY, P.; MEDINA, G. (Ed.). **Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica. Belém, PA: CIFOR, p. 105-113. 2005.**

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento [recurso eletrônico]. Porto Alegre: Artmed, 2017. Disponível em: Acesso em 05 out. 2018.

SILVA, D. B. da; SILVA, J. A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. de. **Frutas do cerrado**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 178, 2001.

SILVA, C. A. M. Contribuição ao estudo químico e biológico de *Pouteria gardnerii* (Mart. & Miq.) Baehni (Sapotaceae). 2007. 197 f. **Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)** - Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

SILVA, N. C. C. Estudo comparativo da ação antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais e sinergismo com drogas antimicrobianas. 2010. 75 f. **Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada)** – Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu, 2010.

SILVA, V. F. DA; FRANCO, ISABELLE; DAMASCENO, T E F.; ALMEIDA, J R G DA S.; COSTA M M DA .; Potencial antimicrobiano de extratos etanólicos de plantas frente a bacilos gram negativos isolados da mucosa cérvico-vaginal de ovelhas criadas na região de Petrolina-PE. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 883-890, mar./abr. 2014.

SILVA, A. O. DA.; SAMPAIO, F. A.; QUEIROZ, I.P.C.S. DE.; CONCEIÇÃO, K.N.; SILVA, V. F. DA.; Poder antioxidante de carotenoides, flavonoides e vitamina e na prevenção da arteriosclerose. Revisão. ISSN: 2447-2301. **ReonFacema**. Out-Dez; 2(4):320-324. 2016.

SIMIONI S.C.C.; TOVAR D.M.; RODRIGUES J. F.; SOUZA V.R.D.; NUNES C.A.; VIETORIS V.; PINHEIRO A.C.M. **Domínio temporal das sensações e preferências de brasileiros e eslovacos: um estudo transcultural das cachaças armazenadas com madeiras da floresta amazônica.** *Jornal da Ciência da Alimentação e Agricultura* Volume 98, Edição 11. 01 de fevereiro de 2018.

SISTEMA AMBIENTAL PAULISTA.; AMBIENTE SP. Jatobá, patrimônio brasileiro. Av. Prof. Frederico Hermann Jr., nº 345 São Paulo/SP. 2016.

SOXHLET, F. Die gewichtsanalytische bestimmung des milchfettes. **Polytechnisches Journal**, v. 232, n.5, p. 461-465, 1879.

SOUZA GC, HAAS AP, VON POSER GL, SCHAPOVAL EE, ELISABETSKY E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil, **J Ethnopharmacol.** 2004;90:135–43.

STASI, L. C. di; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica.** São Paulo: Editora UNESP, p. 605; 2002.

VENCATO, S. B.; LEMES, M. L. B. CAMPELO, D. S.; CORRÊA D. S.; FERRAZ, A. DE B. F.; Avaliação do perfil fitoquímico e potencial antioxidante do extrato aquoso de *Hymenaea courbaril*. **Revista de Iniciação Científica da Ulbra**, 2016.

VIEIRA, DIELOSON S.; PEIXOTO, RODOLFO M.; COSTA, MATEUS M.; FREIRE, DAVI P.; SILVA, T M G.; SILVA, TANIA MARIA S.; Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato etanólico bruto da folha da *Hymenaea martiana Hayne* frente às *Staphylococcus* spp. e avaliação de seu potencial como desinfetante em cabras. **Pesq. Vet. Bras.** vol.38 no.3 Rio de Janeiro, 2018.

VIEIRA, J.A.; RAMOS, M.L.; Avaliação biológica da planta medicinal (*bauhinia forticata*) frente a bactéria *Escherichia coli*, utilizando um sistema de injeção em

fluxo. **CEPE, Congresso de ensino e pesquisa e extensão da UEG.** Universidade Estadual de Goiás, Campus Henrique Santillo - Anápolis – GO, 2018.

World Health Organisation (WHO). WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care: First Global Patient Safety Challenge Clean Care Is Safer Care. Geneva:WHO; 2009. 270p.