

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
INSTITUTO DE SAÚDE E BIOTECNOLOGIA - ISB
CURSO DE BACHAREL EM BIOTECNOLOGIA

DANYELLE VALERY GOMES PENEDO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO
ETANÓLICO DA CASCA DO CAULE DO UXIR AMARELO *ENDOPLEURA UCHI*
(HUBER) CUATREC. CONTRA BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA MÉDICA**

Coari – AM

2022

DANYELLE VALERY GOMES PENEDO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO
ETANÓLICO DA CASCA DO CAULE DO UXIR AMARELO *ENDOPLEURA UCHI*
(HUBER) CUATREC. CONTRA BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA MÉDICA**

Monografia apresentada na disciplina Trabalho de Conclusão de Curso VI do curso de Bacharelado em Biotecnologia do Instituto de Saúde e Biotecnologia - ISB da Universidade Federal do Amazonas –UFAM, para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador Prof^o Me. Michel Nasser Corrêa
Lima Chamy

Coari – AM

2022

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

P398a Penedo, Danyelle Valery Gomes
Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico da casca do caule do uxir amarelo *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. contra bactérias de importância médica / Danyelle Valery Gomes Penedo . 2021
.f.: il.; 31 cm 24

Orientador: Michel Nasser Corrêa Lima Chamy
TCC de Graduação (Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas

Antibacteriano natural . 2. Planta medicinal . 3. *Endopleura uchi* . 1 . 4. Uxir amarelo . I. Chamy, Michel Nasser Corrêa Lima. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

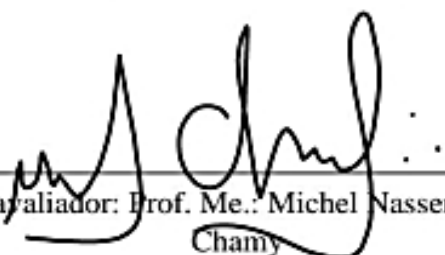
Danyelle Valery Gomes Penedo

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO
ETANÓLICO DA CASCA DO CAULE DO UXIR AMARELO *ENDOUPLEURA*
UCHI (HUBER) CUATREC. CONTRA BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA
MÉDICA**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado
como requisito parcial para a obtenção de grau de
Bacharel em Biotecnologia, pela Universidade
Federal do Amazonas.

Data de aprovação: 22 / 09 / 2022

Banca Examinadora:



Presidente/avaliador: Prof. Me.: Michel Nasser Correa Lima
Chamy



Avaliador: Prof. Dr.: Klenicy Kazumy de Lima Yamaguchi



Avaliador: Prof. Me.: Giuliana Rosana da Silva Souza

AGRADECIMENTOS

Inicialmente agradeço, a DEUS por permitir que tudo isso acontecesse, por ter me dado saúde e forças para superar as dificuldades. Obrigada Deus por me dar sempre tua mão.

Agradeço a todos os professores por me proporcionar conhecimento não apenas racional mais a manifestação do caráter. Ao meu orientador Prof. Me. Michel Chamy, pelo suporte no pouco tempo que lhe coube, pela orientação e apoio na elaboração do projeto.

Agradeço a minha mãe Jonhanes pelo amor e incentivo, também agradeço a minha avó Geralda que é amorosa e carinhosa, obrigada por cuidar do meu bebê nas horas que estive ausente, sou muito grata as minhas tias que são mulheres de garra e fibra, e aos meus irmãos, em especial o Andrey que sempre esteve presente quando precisei.

Sou grata ao meu marido Adalmir pela paciência, compreensão, obrigada por poder compartilhar com você todo o stress e ansiedade, agradeço ao meu filho Théo André pelos carinhos e abraços, sei que es muito pequeno e por isso não entende, mais quero aqui deixar registrado o quanto você me deu força.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram na minha formação meu **MUITO OBRIGADO.**

RESUMO

A procura por plantas medicinais fitoterápicas tem se tornado cada vez mais frequentes, por prejudicarem menos à saúde quando comparado a drogas sintéticas. Pois algumas espécies vegetais são uma importante fonte de medicamentos. O presente projeto teve como objetivo principais, avaliar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico da casca do caule da *Endopleura uchi* (Uxir Amarelo) contra bactérias de importância médica e realizar a triagem fitoquímica preliminar do extrato. O material vegetal foi adquirido comercialmente, em seguida submetido a extração pelo método de maceração a frio. A triagem fitoquímica preliminar foi realizada por colorimetria. O método de disco-difusão foi usado para avaliar atividade antimicrobiana do extrato etanólico da casca do caule da *E. uchi*. O rendimento do extrato foi de 21.2g. As seguintes classes de metabólitos identificadas na triagem fitoquímica preliminar foram: saponinas, taninos, flavononós, flavononas, antocianinas, antocianidinas, quinonas e leucoantocianidinas. Os resultados dos halos de inibição do extrato etanólico da casca do caule da *E. uchi* frente as bactérias foram (*Shigella flexneri* [750mg/mL] = 9.66mm, [850mg/mL] =10.33mm, [950mg/mL]=11.00mm), e *Enterococcus faecalis* ([750 mg/mL]= 10,66mm; [850mg/mL]=10.88mm; [950 mg/mL]=11.88mm). A bactéria *Pseudomonas aeruginosa* não apresentou halos de inibição do extrato. Portanto foi possível notar o potencial da atividade antimicrobiana da casca do caule do uxir amarelo frente a bactérias de importância médica, o que torna este tema relevante para a pesquisa científica. Contribuindo assim para a valorização desta espécie através da divulgação da sua atividade biológica. Acredito que esse trabalho pode contribuir com ciência biotecnológica, porém estudos mais aprofundados se fazem necessários.

Palavras-chave: Antibacteriano natural, Planta medicinal, *Endopleura uchi*.

ABSTRACT

The search for herbal medicinal plants has become increasingly frequent, as they harm health less when compared to synthetic drugs. Because some plant species are an important source of medicines. The main objective of this project was to evaluate the antimicrobial activity of the ethanolic extract of the stem bark of *Endopleura uchi* (Uxir Amarelo) against bacteria of medical importance and to perform a preliminary phytochemical screening of the extract. The plant material was purchased commercially, then subjected to extraction by the cold maceration method. Preliminary phytochemical screening was performed using colorimetry. The disk diffusion method was used to evaluate the antimicrobial activity of the ethanolic extract of the stem bark of *E. uchi*. The extract yield was 21.2g. The following classes of metabolites identified in the preliminary phytochemical screening were: saponins, tannins, flavonones, flavonones, anthocyanins, anthocyanidins, quinones and leucoanthocyanidins. The results of the inhibition halos of the ethanol extract of the stem bark of *E. uchi* against the bacteria were (*Shigella flexneri* [750mg/mL] = 9.66mm, [850mg/mL] =10.33mm, [950mg/mL]=11.00mm), and *Enterococcus faecalis* ([750 mg/mL]=10.66mm; [850mg/mL]=10.88mm; [950mg/mL]=11.88mm). The bacterium *Pseudomonas aeruginosa* did not show inhibition halos of the extract. Therefore, it was possible to notice the potential of the antimicrobial activity of the stem bark of the yellow uxir against bacteria of medical importance, which makes this topic relevant for scientific research. Thus contributing to the appreciation of this species through the dissemination of its biological activity. I believe that this work can contribute to biotechnological science, but further studies are needed.

Keywords: Natural antibacterial, Medicinal plant, *Endopleura uchi*.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVOS	12
3	METODOLOGIA	13
4	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	13
4.1	Obtenção do extrato	14
4.2	Triagem fitoquímica preliminar	14
4.3	Repique das cepas bacterianas	14
4.4	Preparo do meio geral <i>Mueller-Hinton</i>	15
4.5	Preparo das placas	15
4.6	Preparar de solução salina	16
4.7	Preparação do inóculo	16
5	Teste da Sensibilidade Antimicrobiana	16
5.1	Preparo do disco com extrato etanólico da casca do caule da <i>Endopleura uchi</i>	17
5.2	Semeadura das bactérias nas placas	17
5.3	Aplicação dos discos nas placas inoculadas	17
5.4	Incubação das placas	18
5.5	Avaliação dos halos após incubação	18
6	RESULTADO E DISCUSSÃO	19
6.1	Resultado da triagem fitoquímica	19
6.2	Resultado do Teste de Sensibilidade Antimicrobiana	21
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	23
9	REFERÊNCIAS	24

1 INTRODUÇÃO

A importância dos antibióticos no tratamento de doenças infecciosas, representa um grande avanço na saúde, mas o uso desses produtos na prevenção ajuda a selecionar microrganismos multirresistentes, aumentando a dificuldade no tratamento dessas doenças, causando um aumento no número de internações por esses danos colaterais (OLIVEIRA, 2010).

Observando a necessidade de intervenção contra o uso indevido de antibióticos na sociedade, principalmente àqueles causados por infecções bacterianas, devido ao uso indiscriminado de medicamentos, que ajudam a prolongar a vida útil das bactérias durante o controle de doenças infecciosas. Outro fator que pode influenciar no surgimento dessas bactérias resistentes, são o manejo dos resíduos das indústrias farmacêuticas, a exemplo, em alguns países da Europa, nos últimos anos cerca de uma tonelada de antibióticos tem sido descartados no meio ambiente, o que levam a pôr em risco não só a saúde dos seres humanos como também dos animais (CARNEIRO, 2011).

A auto medicação é uma preocupação global, por atingir vários países, constatou-se que ao longo dos anos os antibióticos selecionaram espécies extremamente resistentes aos produtos químicos. Esses micróbios resistentes surgem à medida que as bactérias evoluem, causando mutações que são mudanças na estrutura do gene que podem ocorrer durante a replicação (BAPTISTA, 2013).

Pesquisas do Instituto de Ciências, Tecnologia e Qualidade – ICTQ, mostram que 79% dos brasileiros se automedicam, a pesquisa incluiu homens e mulheres com mais de 16 anos que declararam usar antibióticos sem prescrição médica e farmacêutica (ICTQ, 2018).

O consumo de medicamentos no Brasil durante a pandemia de Covid- 19 nos direcionou ao maior índice de automedicação sem prescrição médica, incluindo uma combinação de medicamentos sem finalidade científica no tratamento da Covid - 19, a população fez o uso do famoso “kit – Covid” (cloroquina, ivermectina, azitromicina, sulfato de hidroxicloroquina) usado tanto para tratar quanto para prevenir a doença, alguns trouxeram efeitos indesejáveis além de poder mascarar alguma doença (BATISTA , 2021).

Percebe-se que a automedicação do “kit-Covid” foi uma falha seguida de medos, incertezas e má informação, que levaram as pessoas a drogarias, sem considerar os riscos do uso inadequado para tratar a Covid - 19, levando a movimentação dos caixas das empresas farmacêuticas nacionais próximo a R\$500 milhões em 2020. Além do consumo indiscriminado

de medicamentos temos o auto risco de um efeito colateral da mistura desses medicamentos (SCARAMUZZO, 2020).

Com o intuito de contornar e contribuir no combate da comunidade científica contra microrganismos patogênicos, surgem os avanços na área da Medicina alternativa, por meio de estudos de plantas medicinais, que vêm sendo cada vez mais pesquisadas e reconhecidas cientificamente. Dada a eficácia das plantas medicinais diante dos bons resultados literários mais pessoas adquirem o uso das plantas por seu valor terapêutico, e são cada vez mais recomendadas (CAVALCANTI, 2020).

Atualmente, o uso de plantas como fonte medicinal é comum, pois os fitoterápicos tem menor incidência de efeitos colaterais, além do baixo custo e melhor adesão a população, também está bem estabelecido em certas culturas e tradições, aumentando assim sua procura como fonte medicinal (CAMPOS, 2019).

A Amazônia é conhecida por seus recursos naturais, clima, solo, flora e fauna, frutas e plantas com propriedades fitorremediadoras utilizadas nas indústrias farmacêutica e cosmética. Essa disponibilidade de recursos naturais na Amazônia permite a exploração de diversas espécies (ARAGÃO, 2013).

Entre as espécies econômicas que compõem a floresta amazônica, temos hortaliças, raízes nativas, plantas medicinais e frutas exóticas. Na biodiversidade têm plantas medicinais sendo usadas por povos indígenas há décadas como fins fitoterápicos. Dentre as famílias de plantas amazônicas de interesse na comunidade acadêmica para desenvolvimento de novos fármacos com potencial antimicrobiano estão: Annonaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae e Humiriaceae (SILVEIRA, 2009).

Pesquisas têm sido feitas pertencentes a ordem das Malpighiales em espécies nativas de Angiospermas dentre elas se destacam as plantas da família Humiriaceae, desde 2010 análises relevantes a cerca desta biodiversidade vem sendo feitas para conservação da flora. A família Humiriaceae envolve 8 gêneros e 63 espécies (FIRMO, 2011).

Dentre as plantas da família Humiraceae destaca-se a *Endopleura uchi* (Huber) por ser de muita importância, um estudo de Politi (2009), demonstrou que a casca de *E. uchi*, tem três tipos de classes de metabólitos secundários: taninos, saponinas e cumarinas. As propriedades farmacológicas dessas substâncias se devem ao padrão da estrutura química. A principal substância do uchi é a bergenina, que é uma isocumarina extraída e isolada do extrato etanólico da casca desta espécie.

A *E.uchi* é conhecida na região Amazônica como uchi, uxiir amarelo, cumatê, pururu, uchi-liso, uchi-ordinário ou uchi-pucu. Possuem árvores rígidas de casca cinza chegam a medir entre 25 e 30 metros de altura, com diâmetro do caule de até 1 metro (OLIVEIRA, 2021).

As propriedades físico-químicas da bergenina são importante para o desenvolvimento de formas farmacêuticas. A base Bergenina é um cristal não higroscópico, estável ao calor e à umidade. É estável a temperaturas de 25°C a 37°C em soluções ácidas (pH=1 a 5), mas é sensível à hidrólise em soluções neutras (pH=7) e alcalinas (pH=8), degradando-se com o aumento da temperatura (POLITI, 2009).

Dada a importância do problema populacional de uso indiscriminado de fármacos, o projeto tem por finalidade contribuir no combate contra microrganismos, e com isso inibir espécies de patógenos extremamente resistentes, causados pelo uso excessivo de remédios sem prescrição medica. Visto que essa batalha contra o abuso de medicação se trata de uma dificuldade global, surgiu a oportunidade de colaborar na luta contra esses patógenos resistentes, através de plantas fitoterápicas derivadas de matéria prima vegetal.

Por meio de pesquisas encontramos uma planta de potencial medicinal a *Endopleura uchi* (Huber) que é uma arvore de grande importância por apresentar ação farmacológica e conter propriedades antibacterianas presentes na casca do seu caule, no qual a bergenina é sua substância principal.

Portanto, percebesse que a planta é importante para o desenvolvimento de fitoterápicos. Nesse intuito diminuir o consumo de fármacos, pois os mesmos passam por uma transformação industrial, que consumidos a longo prazo podem causas dependência química, efeitos colaterais, danos físicos e pode mascarar alguma doença mais grave.

Com isso, o principal foco do trabalho é avaliar a atividade antimicrobiana do extrato do Uchi frente a bactérias de importância medica, sendo uma alternativa para beneficiar a saúde da população humana, pois é um possível agente antibacteriano natural. O que torna este tema relevante para a pesquisa científica. Essa avaliação do extrato etanólico pode ser uma intercessão contra o abuso de drogas, e beneficiar a saúde da população, assim como colaborar com a ciência biotecnológica. Além de ser mais acessível para pessoas de menor renda.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico da casca do caule da *Endopleura uchi* frente a bactéria de importância médica.

2.2 Objetivos específicos

- Efetuar a triagem fitoquímica preliminar do extrato etanólico da casca do caule da *Endopleura uchi*;
- Testar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico da casca do caule da *Endopleura uchi* em diferentes concentrações frente as cepas bacterianas *Shigella Flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa e. Enterococcus Faecalis*;

3 METODOLOGIA

3.1. Equipamentos e Vidrarias

Proveta de 1000 mL
 27 Placa de petri
 Erlenmeyer 1000 mL
 Esqueiro
 Sufilmito
 Papel toalha
 Papel alumínio
 Pisseta
 Capela de Fluxo Laminar
 Balança Analítica de Precisão
 2 Alça de platina
Swab
 1 Alça de Drigalski
 3 Tubos de ensaio com solução salina
 Estante
 1 Becker de 500mL
 2 Becker de 250mL
 Bailarinas

Caneta permanente

Autoclave

3.2. Reagentes

Álcool 70%
 Água sanitária 50%
 Álcool 99, 8% PA
Ágar Mueller-Hinton
Ágar Salmonella-Shigella (SS)
Ágar Cetrimide
Ágar Bile-Esculina
 Água destilada
 Cloreto Férrico
 Ácido Clorídrico (diluído a 0,25%)
 NaOH Hidróxido de Sódio
 Magnésio Granulado
 Ácido Clorídrico Concentrado
 NH₄ OH 6 mol/L
 Solução Alcoólica 1N de KOH

4 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Saúde e Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, que usufrui de toda a vidraria, equipamentos e reagentes necessários para pôr em prática este projeto.

A casca do caule da *Endopleura uchi* (Huber) foi comprada na loja de produtos naturais (Vidas em Grão) em Coari, e pulverizado em moinho de 4 facas até obtenção do pó no Laboratório de Nutrição, foram pulverizadas 600g de casca do caule, identificada e armazenada em saco plástico (PEIXOTO 2015).

4.1 Obtenção do extrato

Para preparar o extrato de *E. uchi* usou-se o método de maceração a frio, onde foi transferido 200g de casca do caule pulverizada para o erlenmeyer de 1000mL, adicionou-se 800mL de álcool 70%, por 96 horas de extração (contato do material vegetal com solvente extrator), a solução foi filtrada. Reservou-se cerca de 40mL do extrato etanólico em um frasco, para fazer o teste fitoquímico, o restante foi para capela para secar em ar circulante por duas semanas, após seco armazenado em frascos de antibióticos na geladeira a 20°C (RODRIGUES, 2016).

4.2 Triagem fitoquímica preliminar

A diluição do teste fitoquímico do extrato etanólico da casca do *uchi* ocorreu na proporção de 1/5, foram 200mL de água destilada para 40mL de extrato puro. O pH do extrato etanólico da casca da *E. uchi* foi de (pH=4.27). O equipamento usado para determinar o valor do (pH), foi o Medidor de pH (ORP), é um aparelho que mede com precisão. Os testes foram realizados com reagentes específicos para cada classe de substâncias de acordo com a metodologia de Matos, 2009. Foram realizados os seguintes testes fitoquímicos: Teste para Quinonas, Teste para Saponinas, Teste para presença de Cumarinas, Teste para Leucoantocianinas, Catequinas e Flavonas, Teste para Fenóis e Taninos, Teste para Antocianinas, Antocianidinas e Flavonoides, Teste para Flavonóis, Flavonas, Flavononóis e Xantonas. Os testes foram considerados positivos por colorimetria, reações de precipitações, coloração, e formação de precipitado (MATOS, 2009).

4.3 Repique das cepas bacterianas

As cepas bacterianas foram doada pelo Laboratório de Microbiologia do ISB-Coari AM. Os repiques foram realizados com o meio específico para cada bactéria. O meio nutritivo Ágar *Salmonella - Shigella (SS)*, usados para repique da *Shigella Flexneri*. O meio nutritivo Ágar Cetrimide, usados para repique da *Pseudomonas aeruginosa* e o meio nutritivo Ágar Bile-Esculina, usados para repique da *Enterococcus Faecalis*. (LABORCLIN, 2018).

O repique foi feito com a alça de platina, selecionou-se uma colônia isolada da cultura de bactéria antiga, para uma placa preparada com o meio específico para cada bactéria, posicionou-se a alça fazendo o esfregaço pelo método de esgotamento por estrias. Esse método de repique foi contínuo para cada bactéria e meios específicos correspondentes a elas. Após término do procedimento. Incubou-se as placas em posição inversa entre 18-24 horas a 35 ± 2 °C (FILHO, 2019). Os preparados dos meios nutritivos foram de acordo com as informações do produtor, de maneira que cada 1 placa de petri tinha 25 mL de ágar (BRCAS, 2020).

4.4 Preparo do meio geral *Mueller-Hinton*

Para preparo do ágar (*Ágar Mueller-Hinton* 38g/1000mL) utilizou-se 27 placas de petri (9 placas para cada teste em triplicata por bactérias) 9 para *Shigella Flexneri*, 9 *Enterococcus Faecalis* e 9 para *Pseudomonas aeruginosa* (27 placas x 25mL de meio = 675mL de água destilada $38g \times 675mL = 25,650 g \div 1000mL = 25.65g$) pesou-se 25.65g do Agar MH. Adicionou-se os 25.65g do ágar em um Erlenmeyer de 1000mL, acrescentou-se 675mL (proveta) de água destilada junto ao meio de cultura no erlenmeyer com ágar, após preparo reservou-se para esterilização em autoclave por 15 minutos.

4.5 Preparo das placas

Utilizamos 27 placas de petri para fazer a triplicada de cada bactéria, elas foram separadas e embaladas em papéis com fita adesiva, 9 placas de petri (9 cada cepa bacteriana) em cada embrulho, seladas e armazenadas em sacos plásticos, junto com o restante do material a ser usado no experimento, isqueiro, marcador, *Swab*, placas, álcool, becker, sufilmito e o meio (*Mueller-Hinton* pronto) para esterilizar na autoclave a 121° C durante 15 minutos (na pressão de 1 atm acima da pressão atmosférica).

Para impedir o excesso de umidade se fez necessário levar as placas para secar em estufa, (placas úmidas podem resultar em halos com bordas distorcidas) após secas as placas foram organizadas no fluxo junto com meio, verteu-se o meio nas placas e identificou-se com data, tipo de bactéria, nome e o meio nutritivo (BRCAS, 2021).

4.6 Preparar de solução salina

No preparo da solução salina (0,85% de NaCl PA em 100mL de solução) usou-se (20mL de água destilada x 0,85% solução salina = $17 \div 100\text{mL} = 0.17\text{g}$ de NaCl), utilizou-se 4 tubos, acrescentou-se 0.17g de NaCl junto a água destilada no becker homogenizou-se, e por fim foram inseridos 5mL de solução salina em cada tubo, em seguida esterilizou-se por 15 minutos em autoclave. Dos 4 tubos usados, 3 tinham solução salina e 1 tubo era o branco (água destilada o branco).

4.7 Preparação do inóculo

Usou-se o método de McFarland 0,5 da escala de suspensão direta, das colônias em solução salina para fazer a suspensão de modo a obter o padrão de turbidez, que corresponde aproximadamente a $1-2 \times 10^8$ UFC/mL. Com um *Swab* de algodão, selecionou-se de 2 a 3 colônias isoladas de bactérias bem definidas na cultura da placa de petri (preparada no dia anterior) e dissolveu-se no tubo com solução salina, nas quais as bactérias foram adicionadas mergulhando um *Swab* de algodão estéril na suspensão e adicionando no tubo de ensaio até obter turbidez. A turbidez foi comparada visualmente com a turbidez do padrão da escala de suspensão direta 0,5 McFarland (BRITO, 2010).

5 Teste da Sensibilidade Antimicrobiana

Os bioensaios foram realizados por meio de teste de sensibilidade antimicrobiana, do extrato etanólico da casca da *E. uchi* e o antibiótico; Piperacilina + Tazobactam 100/10 μg . As cepas testadas foram; *Shigella Flexneri*- gram negativa, *Enterococcus Faecalis*- gram positiva, *Pseudomonas aeruginosa* - gram negativas. Realizou-se o cultivo das cepas bacterianas em meio geral Agar *Muller-Hinton*.

Utilizou-se a técnica de disco difusão. Descrito em 1966 por Kirby Bauer. É realizado dispensando discos antibacterianos em placas de ágar após a aplicação de aproximadamente 1 a 2×10^8 UFC/mL de inóculo bacteriano (BRITO, 2010).

5.1 Preparo do disco com extrato etanólico da casca do caule da *Endopleura uchi*

Os discos de papel filtro estéreis foram impregnados individualmente no extrato etanólico da casca da *E. uchi* nas concentrações de; **1** [750mg], **2** [850mg], **3** [950mg], essas concentrações foram pesadas na balança dentro dos 3 frascos de antibiótico etiquetados. Com auxílio de uma pipeta adicionou-se 1mL de álcool 100% PA concentrado nos 3 frascos nas concentrações **1** [750mg/mL], **2** [850mg/mL] e **3** [950mg/mL], homogenizou-se até misturar todo extrato com o solvente. Identificou-se as placas de petri (as 27 placas de petri semeadas com as bactéria, 9 placas com *Shigella Flexneri*, 9 com *Enterococcus Faecalis* e 9 com *Pseudomonas aeruginosa*) com a pinça os discos foram inseridos nos extratos, e depositados em placas para secar, após secos foram aplicados em placas de TSA juntamente com o branco (água destilada autoclavada) e os discos de antibiótico Piperacilina + Tazobactam 100/10µg.

5.2. Semeadura das bactérias nas placas

Flambou-se o tubo de solução salina com bactéria, mergulhou-se o *Swab* de algodão estéril no tubo de solução removendo o excesso de líquido, flambou-se o tubo novamente, flambou-se a placa com o meio nutritivo, com *Swab* de algodão semeou-se a bactéria pressionando e girando o swab contra a placa de petri, como se tivesse pintando a placa, espalhou-se o inóculo uniformemente nas três direções para não deixar falhas (BRCAS, 2021).

5.3 Aplicação dos discos nas placas inoculadas

Os procedimentos foram realizados em triplicata. Aplicou-se os discos firmemente na superfície das placas de ágar com auxílio da pinça e o pressionou-se por completo, esse processo foi feito em triplicata, 9 placas, 3 placas nas concentrações de 750mg/mL, 3 placas nas concentrações de 850mg/mL e 3 placas nas concentrações 950mg/mL, cada placa ficou composta por 3 discos com extrato etanólico, um disco de antibiótico (Piperacilina + Tazobactam 100/10µg), um disco com água destilada autoclavadas (branco). Os discos foram aplicados em até 15min após a inoculação da placa. Os discos não podem ser removidos após

a aplicação nas placas, uma vez que a difusão dos agentes antimicrobianos dos discos é muito rápida (BRCAST, 2021).

5.4 Incubação das placas

Guardou-se as placas na capela em posição invertida após verificar se os discos não se desprenderam da superfície do ágar. Incubou-se as placas em posição inversa depois da aplicação dos discos por 24 horas em estufa a 35 ± 2 °C (SANTURIOI, 2011).

5.5 Avaliação dos halos após incubação

A avaliação dos halos foi realizada após incubação de 18 a 24 horas de inibição, a medição foi totalizada em milímetros, e medidos com o auxílio de um Paquímetro calibrado visto a olho nu, posicionou-se a placa a cerca de 30cm dos olhos. As interpretações de sensibilidade ocorreram de acordo com os critérios no documento M100-S18 (CLSI, 2008).

6 RESULTADO E DISCUSSÃO

O extrato da casca do caule da *Endopleura uchi* foi obtido por maceração a frio em reagente etanol 70%, o extrato seco rendeu 21.2g. Esse método de extração foi escolhido a partir de um levantamento sobre métodos de extração, no qual o etanol foi um dos reagentes que mais se destacou em rendimento de extratos em plantas do cerrado. O extrato etanólico destaca-se como o mais significativo para constituintes fenólicos (RODRIGUES, 2016).

6.1 Resultado da triagem fitoquímica

As substâncias identificadas através da análises da Triagem Fitoquímica presente no extrato etanólico da *E. uchi*, foram consideradas positivas por reações de precipitações, coloração, e formação de precipitado visto a olho nu. Os métodos para teste fitoquímico foram baseados em Matos, 2009.

Os resultados das análises fitoquímicas são apresentados na (Tabela 01); que comparado com artigo científico de Politi sobre Estudos Farmacognósticos na Avaliação de Atividades Biológicas de Extratos Obtidos das Cascas do *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. (Humiriaceae Juss) na caracterização de um grupo de substâncias químicas, que podem ser empregadas na matéria prima de fármacos, diante dos resultaram positivo comprovados para; Saponinas, Taninos, Flavononós, Flavononas, Antocianinas, Antocianidinas e Cumarina (POLITI, 2009). Comparando o resultado do trabalho com a literatura o resultado obtido foi satisfatório.

O resultado difere em algumas espécies da família Humiriaceae Juss em análise fitoquímica preliminar dos grupos de metabólicos secundários, entre positivos e negativos, testaram negativo para cumarinas e fenóis, e positivo para metabólicos catequinas, saponinas, taninos, flavononós, flavononas, antocianinas, antocianidinas, quinonas e leucoantocianidinas. Porém para muitas espécies o resultado foi similar (BESSA, 2013).

Esse fato pode estar relacionado a coleta, pois cada coleta deve ser feita em épocas diferente para cada espécie, no período em que a espécie apresente maior teor de substâncias ativas. Segundo orientações específicas o melhor período para coleta do caule da planta é em outono, após a coleta deve-se conduzir rapidamente ao laboratório para fazer a assepsia em água corrente, para excluir materiais indesejáveis da parte do material vegetal de interesse, para

evitar que a planta fique inativa tem que estabilizá-la, neutralizando sua ação enzimática (DINIZ, 2007).

É possível afirmar que é importante fazer pesquisas, para estabelecer pontos de colheita ideais e aplicar tecnologias que atrasam ou reduzem a perda da atividade fisiológica e prolongam sua vida útil do material vegetal (CHIRINOS, 2013).

Tabela 01: Resultado do Testes Fitoquímicos Casca do Caule da *Endopleura uchi* (Uxir Amarelo).

Classificação metabólica	Resultado
Cumarinas	-
Saponinas	+
Fenóis	-
Taninos	+
Antocianinas	+
Antocianidinas	+
Flavonoides	+
Flavononas	+
Flavanonós	-
Leucoantocianidinas	+
Xantonas	-
Quinonas	+
Catequinas	-

Portanto a *Endopleura uchi*, indica níveis consideráveis de fenólicos presentes em todas as partes estudadas da espécie as folhas, fruto, caule e raiz. Considerando que compostos fenólicos incluem ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos (RODRIGUES, 2016).

6.2 Resultado do Teste de Sensibilidade Antimicrobiana

As bactérias de interesse (*Shigella Flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *Enterococcus Faecalis*) foram selecionadas para bioensaio de TSA, por serem apontadas como um problema de saúde pública tanto em países em desenvolvimento, quanto em países desenvolvidos. Os resultados da medição dos halos de disco do extrato etanólico da *E. uchi* em cepas de *Shigella Flexneri* estão na (tabela 02). Que comparado aos resultados da bactéria *Enterococcus Faecalis* na (tabelas 03), percebesse que os halos do Extrato etanólico da Casca da *E. uchi* frente a bactéria *Enterococcus Faecalis* foram superiores aos resultados dos halos da *Shigella Flexneri*.

O TSA das bactérias *Enterococcus Faecalis* e *Shigella Flexneri* tiveram halos nas concentrações de [750mg/mL], [850mg/mL] e [950mg/mL] os discos de TSA *Enterococcus Faecalis* tiveram halos maiores variados entre (10.66mm e 11.88mm de discos com extrato) e os discos de TSA da *Shigella Flexneri* tiveram halos menores variados entre (9.66mm e 11.00mm de discos com extrato).

Esses resultados confrontados aos resultados da mesma espécie foram superiores para concentrações de 75µg/mL e inferiores para concentrações de 100µg/mL, em análise antimicrobiana e prospecção fitoquímica da espécie *Endopleura uchi*, a inibição dos halos resultaram entre 7.00mm e 15mm, do extrato etanólico da casca do caule frente a cepa bacteriana *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (SILVA, 2011).

Tabela 02: Resultado do TSA do Extrato etanólico da Casca da *E. uchi* frente a bactéria *Shigella Flexneri*:

Extrato etanólico da Casca do Uxir	Halos mm (Discos com extrato)	Halos mm (Antibióticos)
[750] mg/mL	9.66	26.66
[850] mg/mL	10.33	25.66
[950] mg/mL	11.00	26.33

Tabela 03: Resultado do TSA do Extrato etanólico da Casca da *E. uchi* frente a bactéria *Enterococcus Faecalis*;

Extrato etanólico da Casca do Uxir	Halos mm (Discos com extrato)	Halos mm (Antibióticos)
[750] mg/mL	10.66	19.33
[850] mg/mL	10.88	19.00
[950] mg/mL	11.88	23.33

Tabela 04: Resultado do TSA do Extrato etanólico da *E. uchi* frente a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*;

Extrato etanólico da Casca do Uxir	Halos dos antibióticos mm	Halos mm (Discos com extrato)
[750] mg/mL	14.33	Não houve Halo
[850] mg/mL	14.66	Não houve Halo
[950] mg/mL	14.00	Não houve Halo

Os discos com extrato etanólico da *E. uchi* não tiveram halos frente a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, nas concentrações de [750mg/mL], [850mg/mL] e [950mg/mL] testaram negativos. Apenas os antibióticos Piperacilina + Tazobactam 100/10 μ g tiveram halos, os halos foram inferiores comparados aos resultados dos halos dos antibióticos nas bactérias anteriores (resultado dos halos de antibiótico variaram entre 25.66mm a 26.66mm da *Shigella Flexneri* e *Enterococcus Faecalis* os halos de antibiótico variaram entre 19.00mm a 23.33mm) já os halos de antibiótico da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* variaram entre (14.00mm a 14.66mm) os halos foram menores. Esse resultado ocorreu devido à grande resistência da

bactéria a múltiplos fármacos e resistência cruzada. A *Pseudomonas aeruginosa* demonstra maior facilidade de desenvolvimento a resistência aos antibióticos (FIGUEIREDO, 2007). Esse resultado sugere sérios problemas para saúde pública, pois esses microrganismos podem possuir capacidade de transmitir genes de resistência para outros microrganismos na microbiota intestinal.

A literatura relata que resultados podem ter bastante influência por fatores do ambiente, como temperatura, radiação solar e precipitação, além de fatores genéticos intrínsecos de cada material vegetal (BICAS, 2011).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O resultado obtidos da avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico da casca do caule da *Endopleura uchi* quanto a Triagem Fitoquímica, apresentou classes de metabólitos presentes no extrato, o que indica níveis consideráveis de atividade biológica evidentes na casca do caule do uxi amarelo.

A análise da avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico da casca do caule da *Endopleura uchi* demonstrou halos de inibição promissores para 66,6% dos testes frente as cepas bacterianas de importância médica *Shigella Flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus Faecalis*, o que comprova sua importância na produção de fitoterápicos de fonte natural com eficiência farmacológica. O extrato não apresentou halos de inibição frente a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*.

Portanto Estudos mais aprofundados se fazem necessários para avaliar e determinar o perfil fitoquímico do extrato, e testar suas concentrações inibitórias mínimas. Com tudo o presente trabalho contribui assim para a valorização desta espécie através da divulgação da sua atividade biológica. Acredito que esse trabalho pode contribuir com ciência biotecnológica.

9 REFERÊNCIAS

ANJOS, D. B.; Composição química e atividade antimalárica in vitro de *Endopleura uchi* (Huber) e *Himatanthus sucuuba* (Spruce), 2021.

ARAGÃO, B.A.; **Caracterização bioquímica e centesimal das espécies *Astrocaryum vulgare* Mart. (tucumã) e *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. (Uxi) nativas da região Amazônica.** Araraquara-SP, 2013.

BAPTISTA, M.G.F.M.; **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos.** Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde. Lisboa 2013.

BATISTA, E. L. jornal Folha de S. Paulo; **Grupo de médicos defende tratamento sem eficácia comprovada contra Covid-19.** Acesso em 11 de Agosto de 2022 no site; <https://ww1.folha.uou.com.br>, 2021.

BRCAS, Preparo de meios para o teste de disco-difusão do BrCAST-EUCAST e para a determinação dos valores de concentração inibitória mínima pelo método de microdiluição em caldo, v 6.0.Janeiro de 2020.

BRCAS, Métodos de disco-difusão para teste de sensibilidade aos antimicrobianos do BrCAST-EUCAST. v 7.0, Janeiro de 2021.

BRCAS, Teste de sensibilidade aos antimicrobianos. Método de disco-difusão BrCAST-EUCAST. Versão 9.0 do EUCAST, v 8.0.Janeiro de 2021.

BESSA, N. G. F.; **Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso populacional medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde - Tocantins,** v 15, ano 2013.

BICAS, J. L. et al. **Volatile constituents of exotic fruits from Brazil.** Food Research International, Barking, v. 44, n. 7, Aug. 2022. 2011.

BRITO, F.G.; **Agar Mueller Hinton- Mbiolog, Instruções de Uso;** Versão: 01 Mbiolog– Acesso em: 30 de maio de 2022, e-mail; sac@mbiolog.com.br e site: www.mbiolog.com.br, 2010.

BURATTO, A.P.; **Avaliação da atividade antibacteriana de extratos etanólicos de babosa (*Aloe vera*) /** Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. III, 2013.

CARNEIRO, M.; FERRAZ, T.; **O uso de antimicrobianos em um hospital de ensino: uma breve avaliação.** Elsevier Editora Ltda. Santa Cruz do Sul – RS 2011.

CAVALCANTE, C. A. **Estudo Etnobotânico sobre a contribuição do uso de plantas medicinais utilizadas no Sítio Frexeira Velha,** do Município de pesqueira – PE. V 6, ano 2020.

CAMPOS, A. M. P.; **Amostra científica da Farmácia ProPGP Pro-Reitoria de Pós-**

Graduação. Acesso em 19 de Agosto de 2022, no site:

<https://reserva.fcrs.edu.br/index.php/mostracientificafarmacia/article/view/3583/31202019>.

CHAIBUB, B.A.; **Composição química do óleo essencial e avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial, extrato etanólico bruto e frações das folhas de *Spiranthera odoratissima* A. St.-Hil.v.15, 2013.**

CHIRINOS, R. et al. **Phenolic compound contents and antioxidant activity in plants with nutritional and/or medicinal properties from the Peruvian Andean region. Industrial Crops and Products, London, v. 47, 2013.**

DINIZ, A. O. B; **Alterações dos metabólicos secundários em plantas de *Hypericum* L.(Hypericaceae) Scielo Brasil. Acta Botânica Brasílica ano 2007.**

FARIAS, N. T.E. **Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato etanólico de *Caesalpinia Férra* Mart. (Leguminosae) Dissertação de Mestrado Universidade Federal Rural de Pernambuco/Programa de Pós-graduação em Biociência animal Recife 2013.**

FRACAROLLI, I.F.L.; **Colonização bacteriana e resistência antimicrobiana em trabalhadores de saúde: revisão integrativa.. Avenida dos Bandeirantes, Brasil 2017.**

FILHO, L. G. A. S.; **Embrapa; Detecção da atividade antibacteriana *in vitro* de compostos naturais à base de plantas (metodologia científica) Teresinha PI, 2019.**

FIGUEIREDO, E.A.P.; ***Pseudomonas aeruginosa*: frequência de resistência a múltiplos fármacos e resistência cruzada entre antimicrobianos no Recife /PE. Scielo Brasil, revista brasileira de terapia intensiva 2007.**

FIRMO, W.C.A.; **Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. Uso histórico, popular y científica de plantas medicinales. v. 18, 2011.**

ICTQ, Instituto de Ciência, Tecnologia e Qualidade, **Pesquisa – Automedicação no Brasil. Acesso em 19 de Agosto de 2022 no site: <https://ictq.com.br>, 2018.**

MATOS, F. J. A.; **Introdução a Fitoquímica Experimental, 3 ed./acesso em 10 de Agosto de 2022 no site: www.editora.ufc.br- e-mail: editora@uc.br, 2009.**

MARINHO, H.R.P.; **Resistência bacteriana: Uma revisão da literatura bacterian resistance: a literature review, v16, 2016.**

MIRANDA, J.A.L. **Atividade antibacteriana de extratos de folhas de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Araceae). Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.17, 2015.**

OLIVEIRA, R.K. **Uso racional de antibióticos: Responsabilidade de Prescritores, Usuários e Dispensadores. 2010.**

OLIVEIRA, S. R.; ***Endopleura uchi* – A review about its nutritional compound, biological activities and production markt//Regis Tribuzy de Oliveira year 2021.**

PELISSARI, G.P.; **Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Melampodium divaricatum* (Rich.) DC. Asteraceae. Brazilian Journal of Pharmacognosy**, Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v20n1/v20n1a15.pdf>, v20, 2010.

PEIXOTO, R.M.; **Treatment of goat mastitis experimentally induced by *Staphylococcus Aureus*: a formulation containing *Hymenaea Martiana* extract. Small Rumin. Res. 130:229-235, 2015.**

POLITI, F. A. S.; **Estudo Farmacognóstico e Avaliação de atividades Biológicas de Extratos Obtidos das Cascas Pulverizadas de *Endopleura uchi* (HUBER) CUATREC. (HUMIRACEAE). 2009.**

RODRIUES, F. A.; **Obtenção de extrato de plantas do cerrado, Enciclopédia Biosfera, v 13, ano 2016.**

SANTURIOI, D. F.; **Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a amostras de *Escherichia coli* isoladas de aves e bovinos, RS, Brasil 2011.**

SCARAMUO, M.; **Venda de remédios do ``kit- Covid`` movimentada R\$ 500 mil. Acesso em 11 de Agosto de 2022. No site: <https://valor.globo.com/empresas/noticias/2021/02/05/venda-de-remedioid-do-kit-covid-movimentada-r-500-mi-em-2020.ghtml>, 2020.**

SILVEIRA, L.M.S.; **Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão. São Luís-MA 2009.**

STELAMARIS, B. R.; **Controle Microbiológico Revisado: Patricia C. Beneli Controle Microbiológico APROVADO CHEFIA: Antonio C. A. Canabarro Reginaldo Schiavi, 2010.**