



II CONGRESSO
INTERNACIONAL
DA SAÚDE GAIA-PORTO

DO DIAGNÓSTICO À INTERVENÇÃO

19 - 21 DE NOVEMBRO²⁰¹⁵

Escola Superior de Tecnologia da Saúde

Instituto Politécnico do Porto

Portugal



II CONGRESSO
INTERNACIONAL
DA SAÚDE GAIA-PORTO
DO DIAGNÓSTICO À INTERVENÇÃO



TÍTULO:

II Congresso Internacional da Saúde Gaia Porto: Livro de Atas

EDIÇÃO:

1ª Edição / Livro em 1 Volume, 102 páginas

COORDENAÇÃO:

Silva, Regina A; Baylina, P; Barros, P.

EDITORA:

Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Instituto Politécnico do Porto (ESTSP-IPP)

DESIGN / LAYOUT:

4CS

LOCAL / DATA:

Porto / novembro 2015

ISBN:

978-989-20-6341-6

DEPÓSITO LEGAL:

406753/16

AVISO LEGAL:

Este livro contém informações obtidas através de fontes autênticas. Foram efetuados esforços para publicar os dados e informações fiáveis, mas os coordenadores/editores, bem como a editora, não podem assumir a responsabilidade pela validade de todos os materiais ou pelas consequências do seu uso. Este livro, ou qualquer parte deste, não pode ser reproduzido ou transmitido por qualquer forma ou por qualquer meio, eletrónico ou suporte físico, incluindo fotocópias, microfilmagem, e gravação, ou por qualquer armazenamento de informações ou sistema de recuperação sem autorização prévia por escrito da ESTSP-IPP.

Todos os direitos reservados. Autorização para fotocopiar itens para uso interno ou pessoal pode ser concedido por ESTSP-IPP.

Aviso da marca comercial: Produto ou nomes de empresas podem ser marcas comerciais ou marcas comerciais registadas, e são usados somente para identificação e explicação, sem intenção de infringir.

(ESTSP-IPP)

Escola Superior de Tecnologia da Saúde, Instituto Politécnico do Porto

Rua de Valente Perfeito, 322

4400-330 Vila Nova de Gaia

Porto - Portugal

t. +351 222 061 000

f. +351 222 061 001

e. geral@estsp.ipp.pt

w. www.estsp.ipp.pt

© 2016 pela ESTSP-IPP

Atividade antibacteriana de sementes de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.)

M J Alves^{1*}, H Pimentel², W C B Regis³ & I F R Ferreira⁴

^{1,4} Centro de Investigação da Montanha (CIMO), ESA, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, PORTUGAL

² Escola Superior de Saúde, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, PORTUGAL

^{1,3} Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (PUCMinas), Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Belo Horizonte, BRASIL

<http://cimo.esa.ipb.pt/portal/>, <http://portal3.ipb.pt/index.php/pt/ipb/quem-somos/escolas/essaa>,
<http://www.pucminas.br/destaques/destaques.php>

*Autor correspondente: maria.alves@ipb.pt

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana de um extrato aquoso de sementes de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), proveniente do Brasil, em isolados clínicos. O extrato revelou atividade antibacteriana em todos os isolados clínicos testados com a exceção de *Escherichia coli* e de *Klebsiella pneumoniae*. Os melhores valores de CMI (concentrações mínimas inibitórias) foram observados para *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina (MRSA) (0,25 mg/mL), *Staphylococcus aureus* sensível à metilicina (MSSA), *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus agalactiae* com um valor de 0,5 mg/mL. O extrato testado parece ser uma opção a explorar no combate de bactérias resistentes.

Palavras-Chave: isolados clínicos, extrato de açaí, atividade antibacteriana, multirresistência

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the antibacterial activity of an aqueous extract of açai seeds (*Euterpe oleracea* Mart.), From Brazil, in clinical isolates. The extract showed antibacterial activity in all clinical isolates tested, except for *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. The best minimum inhibitory concentrations (MIC) values were observed for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (0.25 mg/mL), methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA), *Streptococcus agalactiae* and *Enterococcus faecalis*, having a value of 0,5 mg/mL. The tested extract seems to be an option to explore in the combat of resistant bacteria.

Keywords: clinical isolates, açai extract, antibacterial activity, multidrug resistance

1. INTRODUÇÃO

O açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) é o fruto do açazeiro, uma palmeira típica da Amazônia, que se desenvolve bem em climas quentes e húmidos e não suporta secas prolongadas. Ocorre espontaneamente nos estados do Pará, Amazonas, Maranhão e Amapá. Este fruto é considerado um alimento funcional cuja polpa apresenta elevado valor energético por conter alto teor de lípidos, nomeadamente ácidos gordos ómega 6 e 9. Além disso é rico em hidratos de carbono, fibras, vitamina E, proteínas e minerais (Mn, Fe, Zn Cu, Cr), apresentando uma grande quantidade de antioxidantes, tais como antocianinas, proantocianidinas e outros flavonóides, que se apresentam como os fitoquímicos

predominantes. Desses compostos, as antocianinas são as que mais contribuem para a capacidade antioxidante da polpa do açaí (Portinho *et al.*, 2012).

Para além das comprovadas propriedades bioativas da polpa (Gironés-Vilaplana, 2013; Bonomo *et al.*, 2014; Dias *et al.*, 2014; Zielinski *et al.*, 2014;), também as sementes têm sido descritas como apresentando potencial antioxidante e citotóxico em linhas celulares tumorais humanas (Barros *et al.*, 2015). O açaí apresenta ainda benefícios em relação à dislipidémia, à Diabetes mellitus tipo II, à síndrome metabólica, tendo ainda efeito anti-inflamatório, antimicrobiano e anti-proliferativo (Fragoso *et al.*, 2012; Portinho *et al.*, 2012; Dias *et al.*, 2014; Espitia, *et al.*, 2014; Gale *et al.*, 2014).

Nos últimos anos tem-se notado uma elevada resistência a múltiplos fármacos em microrganismos patogénicos humanos devido, essencialmente, ao uso indiscriminado de antimicrobianos no tratamento de doenças infecciosas (Karaman *et al.*, 2003). Este enorme aumento das resistências associadas às doenças infecciosas e à mortalidade está a exercer uma considerável pressão nos sistemas de saúde, principalmente a nível hospitalar (Shorr *et al.*, 2006). Além do problema da multirresistência, as infeções associadas aos cuidados de saúde (IACS) estão aliadas a uma alta mortalidade e também a um aumento do período de internamento e custos (Orsi *et al.*, 2002).

Vários estudos realizados em Portugal com microrganismos, como *Staphylococcus aureus* metilina resistente (MRSA), *Enterococcus faecalis*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas aeruginosa*, revelaram que a suscetibilidade aos agentes antimicrobianos diminuiu, havendo um aumento global crescente de virulência (Cardoso *et al.*, 2002; Novais *et al.*, 2004; Machado *et al.*, 2007).

A European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) (2015) referiu que, apesar de a ocorrência de MRSA ter estabilizado ou mesmo diminuído em vários países europeus, alguns países como Portugal apresentam percentagens de MRSA superiores a 25%. Refere ainda que nos últimos quatro anos, tem havido uma tendência crescente significativa da resistência combinada para múltiplos antibióticos em bactérias como *E. coli* e *K. pneumoniae* em alguns países da União Europeia, nos quais se inclui Portugal.

Esta situação promove a procura de novas substâncias antimicrobianas a partir de várias fontes naturais como cogumelos e plantas, entre outros (Karaman *et al.*, 2003).

Neste contexto o açaí, e em particular as suas sementes, pode constituir um recurso valioso a explorar na descoberta de novos extratos e/ou compostos bioativos de origem natural e que sejam capazes de inibir bactérias multirresistentes.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana de um extrato aquoso obtido a partir de sementes de açaí (*Euterpe Oleracea* Mart.), provenientes do Brasil, em isolados clínicos com elevados perfis de resistência a diferentes antimicrobianos, obtidos no Centro Hospitalar de Trás-os-Montes e Alto Douro – Unidade de Vila Real.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparação do extrato

Os frutos de *Euterpe oleracea* Mart. (açaí) foram adquiridos em janeiro de 2014 num mercado local em Belém - Pará – Brasil. Para a preparação dos extratos, removeu-se o epicarpo e o endocarpo, e as sementes foram maceradas em água durante 30 min a 25°C. As amostras foram centrifugadas durante 30 min a 50000g a 4°C. Recolheu-se o sobrenadante que foi, posteriormente, liofilizado. O extrato foi caracterizado quimicamente em termos da sua composição polifenólica (Barros *et al.*, 2015).

2.2 Isolados bacterianos

Os microrganismos utilizados foram isolados clínicos de pacientes hospitalizados em vários serviços do Centro Hospitalar de Trás-os-Montes e Alto Douro- Unidade de Vila Real.

Foram testadas cinco bactérias Gram-negativo (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Morganella morganii*, isoladas a partir de urina, e *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter*

baumannii, isoladas a partir de expetoração) e cinco bactérias Gram-positivo (*Staphylococcus aureus* sensível à meticilina (MSSA), isolada a partir de um exsudado de ferida, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), isolada a partir de expetoração, *Enterococcus faecalis*, isolada a partir de urina, *Listeria monocytogenes*, isolada a partir de um líquido cefalorraquidiano (LCR) e *Streptococcus agalactiae*, isolada a partir de um exsudado vaginal) para avaliar a atividade antibacteriana do extrato de açáí.

2.3 Identificação de isolados e teste à suscetibilidade antibacteriana

A caracterização da suscetibilidade aos antibióticos e a identificação das estirpes alvo foram realizadas utilizando Painéis MicroScan® (Siemens). Estes painéis permitem a determinação simultânea da suscetibilidade a agentes antimicrobianos e a identificação da estirpe, incluindo bacilos Gram-negativo aeróbios e anaeróbios facultativos (Painéis MicroScan® Neg), e cocos Gram-positivo, tais como alguns de crescimento fastidioso e *Listeria monocytogenes* (Painéis MicroScan® POS) (SHD, 2008).

2.4 Atividade antibacteriana do extrato

A concentração mínima inibitória (CMI) do crescimento bacteriano foi determinada utilizando o ensaio colorimétrico rápido que utiliza o corante cloreto de p-iodonitrotetrazólio (INT), após já ter sido efetuado o método da microdiluição, de acordo com a metodologia de Kuete *et al.*, (2011). Inicialmente foram diluídos 50 µL do extrato (20 mg/ mL) em 450 µL de Mueller Hinton broth (MHB) para os microrganismos *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, MSSA e MRSA, e em 450 µL de Tryptone Soya broth (TSB) para os microrganismos *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes* e *Streptococcus agalactiae*. Em seguida foram adicionados em cada dois poços (duplicado) 200 µL da solução do extrato preparada. As diluições foram realizadas em poços contendo 100 µL de MHB ou TSB (dependendo do microrganismo), sendo depois adicionado a todos os poços 10 µL de inóculo (1 x 10⁸ CFU/mL). Foram realizados dois controlos negativos (um com MHB ou TSB, dependendo do microrganismo, e outro com o extrato diluído em MHB ou TSB) e um controlo positivo (MHB ou TSB com o inóculo). As microplacas (de 96 poços) foram incubadas numa estufa a 37°C durante 24h. A CMI das amostras foi determinada após a adição de INT (0,2 mg/mL, 40 µL) e após incubação a 37°C durante 30 minutos. Todos os ensaios foram realizados em duplicado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos pode observar-se que o extrato aquoso de açáí possui atividade antibacteriana para todos os isolados clínicos testados com a exceção de *E. coli* e *K. pneumoniae* (Tabela 1).

O valor mais baixo de CMI foi observado para MRSA (0,25mg/mL), seguido de MSSA, *S. agalactiae* e *E. Faecalis*, todos com CMIs de 0,5 mg/mL (Tabela 1).

De entre as bactérias Gram-negativo, os melhores resultados foram verificados para *M. morganii* com uma CMI de 1 mg/mL, seguida de *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, ambas com CMI de 1mg/mL (Tabela 1).

São notórios os melhores resultados para as bactérias Gram-positivo, provavelmente, devido às diferenças na estrutura da parede celular.

Devem ser salientados os excelentes resultados para as bactérias Gram-negativo, nomeadamente, *A. baumannii* e *P. aeruginosa* que são microrganismos problemáticos devido aos seus elevados perfis de resistência e à sua ligação a infeções associadas aos cuidados de saúde (IACS).

Tabela 1. Valores de concentração mínima inibitória (CMI) do extracto aquoso de açai em relação ao crescimento de isolados clínicos.

Microrganismos	CMI (mg/mL)
Bactérias Gram-negativo	
<i>Escherichia coli</i>	>2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2
<i>Morganella morganii</i>	1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2
<i>Klebsiella pneumonia</i>	>2
Bactérias Gram-positivo	
MSSA	0,5
MRSA	0,25
<i>Streptococcus agalactae</i>	0,5
<i>Listeria monocytogenes</i>	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	0.5

4. CONCLUSÃO

O extrato aquoso de açai estudado apresentou atividade antibacteriana para a maioria dos isolados clínicos testados com valores de CMI abaixo dos 2mg/mL e com elevados perfis de resistência.

É de salientar que este extrato apresentou maior atividade para as bactérias Gram-positivo comparativamente com as Gram-negativo.

Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que o extrato de sementes de açai é uma excelente opção no combate de bactérias problemáticas responsáveis por infeções associadas aos cuidados de saúde.

No entanto, será necessário desenvolver mais estudos no sentido de perceber qual o(s) componente(s) presente(s) no açai responsável(is) por esta atividade, bem como qual o mecanismo de ação envolvido neste processo.

5. BIBLIOGRAFIA

- Barros, L., Calheta, R.C., Queiroz, M.J.R.P., Santos-Buelga, C., Santos, E.A., Regis, W.C.B., Ferreira, I.C.F.R. (2015). The powerful in vitro bioactivity of *Euterpe oleracea* Mart. seeds and related phenolic compounds. *Ind. Crop. Prod.*, 76, 318–322.
- Bonomo, L., Silva, D., Boasquivis, P., Paiva, F., Guerra, J., Martins, T., *et al.*, (2014). Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) modulates oxidative stress resistance in *Caenorhabditis elegans* by direct and indirect mechanisms. *PloS One*, 9(3), 89- 93.
- Cardoso, O., Leitão, R., Figueiredo, A., Sousa, J. C., Duarte, A., Peixe, L. V. (2002). Metallo-beta-lactamase VIM-2 clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from Portugal. *Microbiol Drug Resistance*, 8(2), 93-97.
- Dias, M., Noratto, G., Martino, H., Arbizu, S., Peluzio Mdo, C., Talcott, S., *et al.*, (2014). Pro-apoptotic activities of polyphenolics from açai (*Euterpe oleracea* Martius) in human SW-480 colon cancer cells. *Nutrition and Cancer* 66(8), 1394-405.
- Espitia, P., Avena-Bustillos, R., Du, W., Chiou, B., Williams, T., Wood, D., *et al.*, (2014). Physical and antibacterial properties of açai edible films formulated with thyme essential oil and apple skin polyphenols. *Journal Food Science*, 79(5), 903-10.
- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) (2015). Annual epidemiological report 2014 - Antimicrobial resistance and healthcare-associated infections. Disponível em : http://ecdc.europa.eu/en/publications/_layouts/forms/Publication_DispForm.aspx?List=4f55ad51-4aed-4d32-b960-af70113dbb90&ID=1292.

- Fragoso, M., Prado, M., Barbosa, L., Rocha, N., & Barbisan, L. (2012). Inhibition of mouse urinary bladder carcinogenesis by açai fruit (*Euterpe oleraceae* Martius) intake. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67(3), 235-41.
- Gale, A., Kaur, R., & Baker, W. (2014) Hemodynamic and electrocardiographic effects of açai berry in healthy volunteers: a randomized controlled trial. *International Journal of Cardiology*, 174(2), 421-3.
- Gironés-Vilaplana, A., Villaño, D., Moreno, D., & García-Viguera, C. (2013). New isotonic drinks with antioxidant and biological capacities from berries (maqui, açai and blackthorn) and lemon juice. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 64(7), 897-906.
- Karaman, I., Sahin, F., Güllüce, M., Ögütçü, H., Sengül, M., Adigüzel, A. (2003) Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 85, 231-235.
- Kuete, V., Ango, P.Y., Fotso, G.W., Kapche, G.D., Dzoyem, J. P., Wouking, A.G., Ngadjui, B.T. and Abegaz, B.M.(2011). Antimicrobial activities of the methanol extract and compounds from *Artocarpus communis* (Moraceae). *BMC Complement Alt Med*, 25, 11–42.
- Machado, E., Coque, T. M., Cantón, R., Novais, Â., Sousa, J. C., Baquero, F. (2007). High diversity of extended-spectrum β -lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* from Portugal. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60, 1370-1374.
- Novais, C., Coque, T. M., Sousa, J. C., Baquero, F., Peixe, L. (2004). Local Genetic Patterns within a Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecalis* Clone Isolated in Three Hospitals in Portugal. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(9), 3613-3617.
- Orsi, G. B., Stefano, L. D. (2002). Hospital-Acquired, Laboratory-Confirmed Bloodstream Infection: Increased Hospital Stay and Direct Costs. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 23(4), 190-197.
- Portinho, J., Zimmermann, L., & Bruck, M. (2012). Efeitos Benéficos do Açai. *International Journal of Nutrology*, 5(1), 15-20.
- Shor, A. F, Tabak, Y. P., Gupta, V., Johannes, R. S., Liu, L. Z., Kollef, M. H. (2006). Morbidity and cost burden of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in early onset ventilator-associated pneumonia. *Critical Care*, 10(3), 1-7.
- Siemens Healthcare Diagnostics (SHD) (2008) Manual do utilizador Lab Pro™. Wilsonville: Edições Mentor Graphics Corporation.
- Zielinski, A., Ávila, S., Ito, V., Nogueira, A., Wosiacki, G., & Haminiuk, C. (2014). The association between chromaticity, phenolics, carotenoids, and in vitro antioxidant activity of frozen fruit pulp in Brazil: an application of chemometrics. *Journal of Food Science*, 79(4), 510-6.