



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

MARINA MEDEIROS DE ABREU

**Avaliação da atividade antidiarreica em camundongos e
antimicrobiana *in vitro* do extrato bruto das cascas do fruto de *Pouteria
caimito* (Ruiz e Pavon) Radlk.**

**Macapá
2018**

MARINA MEDEIROS DE ABREU

Avaliação da atividade antidiarreica em camundongos e antimicrobiana *in vitro* do extrato bruto das cascas do fruto de *Pouteria caimito* (Ruiz e Pavon) Radlk.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof^ª Dr^ª Alessandra Azevedo do Nascimento

**Macapá
2018**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá

581.63

A162a Abreu, Marina Medeiros de.

1.1.1. Avaliação da atividade antidiarreica em camundongos e antimicrobiana *in vitro* do extrato bruto das cascas de fruto de *Pouteria caimito* (Ruiz e Pavon) Radlk / Marina Medeiros de Abreu; orientadora, Alessandra Azevedo do Nascimento. – Macapá, 2018.

62 f.

Dissertação (Mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

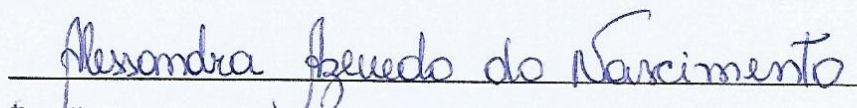
1. Extrato – *Pouteria caimito*. 2. Plantas medicinais. 3. Atividade antimicrobiana. 4. Ensaio biológico. I. Nascimento, Alessandra Azevedo do, orientadora. II. Fundação Universidade Federal do Amapá. III. Título.

**Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
da Universidade Federal do Amapá**

BANCA EXAMINADORA

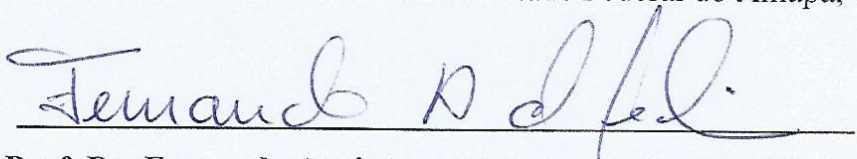
Aluno(a): Marina Medeiros de Abreu

Orientador(a): Alessandra Azevedo do Nascimento



Prof.ª. Dr.ª. Alessandra Azevedo do Nascimento/ Presidente

Professora do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Amapá, UNIFAP.



Prof. Dr. Fernando Antônio de Medeiros / Membro Titular

Professor do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da
Universidade Federal do Amapá, Unifap.



Prof. Dr. Francisco Fábio Oliveira de Sousa / Membro Titular

Professor do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Amapá, UNIFAP.

Data: 06/03/2018

Dedico esse trabalho...
Ao meu Senhor e Mestre, Jesus Cristo...
Autor do meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia,
“Em quem estão escondidos todos os tesouros da sabedoria e da ciência.”

Colossenses 2:3

O que seria de mim sem a fé que eu tenho em Ti?

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois “A Tua palavra é lâmpada que ilumina os meus passos e luz que clareia o meu caminho. ” Salmos 119:5. Tudo o que há de bom em mim e na minha vida tem como fonte o Teu Amor Pai.

A minha orientadora, Prof^a Dr^a Alessandra Azevedo do Nascimento, pelo suporte, correção, incentivo, orientação e confiança. Sei que muitas vezes não foi fácil, mas agradeço a Deus por ter me direcionado a alguém tão inspirador. Obrigada por nunca negar dividir os seus conhecimentos, que não são poucos.

Ao meu marido (Sumit), minha mãezinha (Eugênia), minha irmã (Michelle) e meu irmão (Carlos Henrique), pois eu sei que não há no mundo quem acredite mais na minha capacidade do que vocês. Amo mais do que palavras podem expressar.

As minhas amigas de laboratório, Patrícia e Priscila, pela colaboração nos experimentos e pelas risadas! Espero levar essa amizade para a vida.

Ao Professor e Mestre Fabio Rodrigues de Oliveira, por todo conhecimento e ajuda altruísta.

Aos colaboradores do laboratório, Gutemberg e Jubervan.

A esta universidade, seu corpo docente, direção e administração, por contribuir com tanto empenho para a nossa formação.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	DIARREIA.....	1
1.1.2	Classificação Fisiopatológica	2
1.1.3	Diarréia Aguda	3
1.2	TRATAMENTOS ATUAIS PARA DIARRÉIA.....	7
1.3	FAMÍLIA, GÊNERO E ESPÉCIE.....	9
1.3.1	Família Sapotaceae	9
1.3.2	Gênero <i>Pouteria</i>	10
1.3.3	Espécie <i>Pouteria caimito</i>	15
2	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVO GERAL.....	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
3	MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1	COLETA DO FRUTO.....	20
3.2	OBTENÇÃO DO EXTRATO METANÓLICO DE <i>P. caimito</i>	20
3.3	OBTENÇÃO DAS FRAÇÕES (PARTIÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO).....	20
3.4	ANIMAIS.....	21
3.5	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIDIARREICA DO EXTRATO METANÓLICO DAS CASCAS DE <i>P. caimito</i> (EMPC).....	21
3.5.1	Avaliação do EMPC sobre a modulação da defecação normal em camundongos	22
3.5.2	Avaliação dos efeitos do EMPC sobre a diarreia induzida por agente catártico em camundongos	22
3.5.3	Efeito do EMPC sobre o trânsito intestinal estimulado em camundongos	22
3.6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO METANÓLICO DA CASCA DE <i>P. caimito</i> E SUAS FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO E ACETATO DE ETILA.....	23
3.6.1	Microrganismos	23
3.6.2	Meios de Cultura	24
3.6.3	Inoculo Bacteriano	24
3.6.4	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	25
3.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	26

3.8	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	26
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	27
4.1	RENDIMENTOS DO EXTRATO E FRAÇÕES.....	27
4.2	ATIVIDADE ANTIDIARREICA DO EXTRATO METANÓLICO DAS CASCAS DE <i>P. caimito</i> (EMPC).....	27
4.2.1	Avaliação do EMPC sobre a modulação da defecação normal em camundongos.....	27
4.2.2	Avaliação dos efeitos do EMPC sobre a diarreia induzida em roedores.....	28
4.2.3	Efeito do EMPC sobre o trânsito intestinal estimulado.....	29
4.3	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO METANÓLICO DAS CASCAS DE <i>P. caimito</i> E DAS FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO E ACETATO DE ETILA.....	31
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	33
	REFERENCIAS.....	34
	ANEXOS.....	47

LISTA DE TABELAS, FIGURAS, GRÁFICOS E ANEXOS

Tabela 1.	Composição centesimal da parte comestível do fruto <i>Pouteria caimito</i>	17
Tabela 2.	Média de evacuações, ao longo de 4h, dos grupos tratados com EMPC nas doses de 30, 100 e 300mg/kg e dos grupos controles.....	28
Tabela 3.	Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) para o extrato de <i>P. caimito</i> e frações hexânica, clorofórmica e acetato de etila.....	31
Figura 1.	Representação da espécie <i>P. caimito</i> e abieiro no qual foi realizada a coleta dos frutos.....	16
Gráfico 1.	Efeito de diferentes doses do EMPC (30, 100 e 300mg/kg), veículo e loperamida sobre a diarreia induzida com óleo de rícino. Em (A) evacuações totais e (B) evacuações diarreicas.....	29
Gráfico 2.	Efeito do EMPC (30mg/kg, 100mg/kg e 300m/kg, n=5), veículo e loperamida (5mg/kg) sobre o trânsito intestinal estimulado.....	30
Quadro 1.	Principais agentes infecciosos de etiologia bacteriana	6
Quadro 2.	Espécies de <i>Pouteria</i> quimicamente estudadas e seus compostos.....	12
Quadro 3.	Espécies de <i>Pouteria</i> e suas atividades biológicas estudadas.....	13
Quadro 4.	Relação das cepas bacterianas usadas, sua origem e histórico.....	24
Anexo 1	Parecer do Comitê de Ética no Uso de animais da Universidade Federal do Amapá.....	47
Anexo 2	Identificação e Incorporação da Amostra Botânica do fruto <i>Pouteria caimito</i>	48
Anexo 3	Foto de placa do ensaio para cepa de <i>Escherichia coli</i> após ser revelada com a resazurina, onde se observa o crescimento bacteriano (nos poços róseos).....	49
Anexo 4	Foto de placa do ensaio para cepa de <i>Klebsiella pneumonie</i> após ser revelada com a resazurina, onde se observa o crescimento bacteriano (nos poços róseos).....	49
Anexo 5	Foto de placa do ensaio para cepa de <i>Staphylococcus epidermidis</i> após ser revelada com a resazurina, onde se observa o crescimento bacteriano (nos poços róseos).....	50

Anexo 6	Foto de placa do ensaio para cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> após ser revelada com a resazurina, onde se observa o crescimento bacteriano (nos poços róseos).....	50
Anexo 7	Foto de placa do ensaio para cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> após ser revelada com a resazurina, onde se observa o crescimento bacteriano (nos poços róseos).....	51
Anexo 8	Foto de placa do ensaio para cepa de <i>Salmonella tiphy</i> após ser revelada com a resazurina, onde se observa o crescimento bacteriano (nos poços róseos).....	51

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

ATCC	American Type Culture Collection
CBM	Concentração bactericida mínima
CIM	Concentração inibitória mínima
CEUA	Comitê de Ética no uso de animais
°C	Graus Celsius
EMPC	Extrato Metanólico da Casca da Semente de <i>Pouteria caimito</i>
ECEH	<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica
ECEA	<i>Escherichia coli</i> enteroagregativa
e.p.m	Erro padrão da média
FICRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
g	Gramas
h	Hora(s)
IEPA	Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
Kcal	Quilocaloria
Kj	Quilojoule
LACEN/AP	Laboratório Central de Saúde Pública do Amapá
LEA	Laboratório de Experimentação Animal
mmoL	Milimol
mL	Mililitro
mEq	Miliequivalente
mg	Miligrama
mm	Milímetro
NaCl	Cloreto de sódio
OMS	Organização Mundial de Saúde
SRO	Solução de reidratação oral
WGO	World Gastroenterology Organization
UNIFAP	Universidade Federal do Amapá
UCF	Unidade Formadora de Colônia
V.D	Valores diários
v/v	Volume/volume

%	Porcentagem
®	Registrado
µg	Micrograma
µL	Microlitro

Avaliação da atividade antidiarreica em camundongos e antimicrobiana *in vitro* do extrato bruto das cascas do fruto de *Pouteria caimito* (Ruiz e Pavon) Radlk.

RESUMO

Introdução: *Pouteria caimito* é uma fruta nativa da Amazônia, popularmente conhecida como "abiu", "caimito", "caimo" e "cauje" que pertence à família Sapotaceae. Tem amplo uso popular para aliviar a diarreia, a tosse, a febre e a inflamação, entre outros fins, no entanto, poucos relatos na literatura científica apontam para sua constituição e atividade biológica. **Objetivos:** O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antidiarréica e antimicrobiana do extrato de casca do fruto *Pouteria caimito*. **Metodologia:** A atividade antidiarréica foi avaliada em camundongos, utilizando modelos de modulação de defecação normal, diarreia induzida por agente catártico e estimulação do trânsito intestinal. A atividade antimicrobiana foi analisada contra cepas de bactérias gram-positivas e negativas: *E. coli*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. faecalis* e *Salmonella typhi*, determinando a concentração inibitória mínima por métodos de microdiluição. **Resultados e discussão:** Os resultados deste estudo mostraram que não houve ação antidiarreica nos modelos experimentais e que o extrato metanólico de *P. caimito* (EMPC) pode modular positivamente a defecação normal. Em relação à atividade antimicrobiana, o extrato bruto e a fração acetato de etila apresentaram ação satisfatória contra a maioria das cepas avaliadas, com exceção de *Enterococcus faecalis* e *Salmonella typhi*. **Conclusões:** A pesquisa concluiu que EMPC não mostrou atividade antidiarreica significativa, mas possivelmente um efeito laxante. O extrato mostrou atividade antimicrobiana, bem como a fração acetato, contra cepas de bactérias gram-positivas e gram-negativas. A atividade do extrato bruto foi mais potente que os resultados obtidos pelo uso de frações de acetato e as frações com menor polaridade não apresentaram atividade antimicrobiana relevante.

Palavras-Chave: Abiu. Atividade antidiarréica. Atividade antimicrobiana. Sapotaceae

Agradecimentos: LEA, Unifap

**EVALUATION OF ANTIDIARRHEAL ACTIVITY IN MICE AND
ANTIMICROBIAL *IN VITRO* OF THE CRUDE EXTRACT OF *Pouteria
caimito* (Ruiz and Pavon) Radlk FRUIT BARK**

ABSTRACT

Introduction: *Pouteria caimito* is a native Amazonian fruit, popularly known as "abiu", "caimito", "caimo" and "cauje" that belongs to the Sapotaceae family. It has a wide popular use to alleviate diarrhea, cough, fever and inflammation, among other purposes, however, few reports in the scientific literature point to its constitution and biological activity. **Objectives:** The objective of this study was to evaluate the antidiarrheal and antimicrobial activity of *Pouteria caimito* fruit peel extract. **Methodology:** The antidiarrheal activity was evaluated in mice, using modulation models of normal defecation, diarrhea induced by cathartic agent and stimulation of the intestinal transit. Antimicrobial activity was analyzed against strains of gram-positive and negative bacteria: *E. coli*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. faecalis* and *Salmonella tiphy* by determining the minimum inhibitory concentration by microdilution methods. **Results and discussion:** The results of this study showed that there was no antidiarrheal action in the experimental models and that methanolic extract of *P. caimito* (MEPC) can positively modulate normal defecation. Regarding the antimicrobial activity, the crude extract and the ethyl acetate fraction presented a satisfactory action against most of the strains evaluated except for *Enterococcus faecalis* and *Salmonella tiphy*. **Conclusions:** The research concluded that MEPC did not show significant antidiarrheal activity, more possibly a laxative effect. The extract showed antimicrobial activity as well as the acetate fraction against strains of gram-positive and gram-negative bacteria. The activity of the crude extract was more potent than the results obtained by the use of acetate fractions; the fractions with lower polarity did not present any relevant antimicrobial activity.

Key words: Abiu. Antidiarrheal activity. Antimicrobial activity. Sapotaceae

Acknowledgements: LEA, Unifap

1.1 DIARREIA

A diarreia aguda é definida, pela Organização Mundial de Gastroenterologia (WGO), como a passagem de uma grande quantidade de fezes amolecidas, maior do que o normal, e/ou aumento no número de evacuações, geralmente três ou mais evacuações ao dia, com duração menor do que 14 dias (MORAES; CASTRO, 2014). Caracterizada por fezes líquidas, geralmente superior a 300mL, ela é acompanhada por uma perda de líquidos e eletrólitos (especialmente sódio e potássio) excessiva (DECHER; KRENTSKY, 2012) devido ao comprometimento do equilíbrio entre reabsorção e secreção pela mucosa intestinal, que leva à liquidificação das fezes (MORAES; CASTRO, 2014).

Nos países mais pobres, em continentes como da Ásia, África e America Latina (GUERRANT et.al., 1990), a diarreia é responsável por inúmeras mortes, principalmente em crianças menores de 5 anos, aparecendo como a segunda causa de mortalidade na população em geral e como primeira causa de morte na população pediátrica, especialmente aquela com menor ou nenhum acesso à boas condições sanitárias (KOSEK; BERN; GUERRANT, 2003). Em 2010, a diarreia foi responsável por 10,5% de todas as mortes de crianças com idade inferior a cinco anos, respondendo por 800 mil mortes nessa faixa etária (LIU, 2012).

Outros fatores, além da idade reduzida, se apresentam como fatores de riscos que influenciam na incidência e no perfil etiológico da diarreia nos grupos populacionais (GOMES, 1997), dentre os quais, estão: as deficiências nutricionais, práticas inadequadas de higiene e alimentação, desmame precoce, aglomerações domiciliares e institucionais, ausência de saneamento básico, água contaminada e períodos de calor (VICTORA; FUCHS, 1992). Além desses citados anteriormente, fatores comportamentais podem ser considerados fatores de riscos para diarreias infecciosas e dentre eles estão: viagem recente, principalmente para áreas tropicais e alimentos ou circunstâncias alimentares incomuns (frutos do mar, especialmente crus; refeições em restaurantes ou lanchonetes) (MORAES; CASTRO, 2014).

1.1.2 Classificação Fisiopatológica

Do ponto de vista fisiopatológico, as diarreias podem ser osmóticas, secretoras, exsudativas e motoras (BRUYN, 2008), podendo ainda ser do tipo não inflamatória ou inflamatória, não infecciosa ou infecciosa e associada a patógenos, que, embora não comprometam primariamente o trato gastrointestinal, podem levar ao quadro de diarreia aguda (MINCIS; MINCIS, 2007).

Nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, independentemente da região geográfica, os vírus e as bactérias representam os agentes etiológicos mais comuns, porém os protozoários, também podem causar o processo diarreico, nas áreas onde as enteroparasitoses são endêmicas (CHENG; McDONALD; THIELMAN, 2005). No Brasil, a mortalidade por doenças infecciosas e parasitárias, ainda são marcantes, principalmente no Norte e Nordeste, onde são relacionadas à pobreza e/ou precárias condições de atendimento à saúde (SCHRAMM et al, 2004).

As diarreias osmóticas ocorrem quando solutos osmoticamente ativos estão presentes no trato intestinal e são pouco absorvidos, ou seja, existe uma disfunção na capacidade do intestino em reabsorver o fluido à medida que este flui através do lúmen (KENT; BANKS, 2010). É o que acontece, por exemplo, nas diarreias que se seguem após a ingestão de lactose por pessoas intolerante (DECHER; KRENITSKY, 2012). Inflamação do intestino devido a doença (doença de Crohn) ou processos de infecção podem ser outras causas de diarreia osmótica (POWELL; JENKINS, 2012).

No caso da diarreia secretória, patógenos não-invasivos agridem o intestino delgado com toxinas que promovem secreção abundante de água e eletrólitos (DECHER; KRENITSKY, 2012). Este tipo de diarreia está relacionado principalmente aos seguintes microorganismos: vibrião colérico, cepas de *Escherichia coli*, espécies de *Salmonella* e *Campylobacter jejuni*, que após ultrapassarem a barreira gástrica, colonizam as partes mais distais da luz intestinal, produzindo aí suas respectivas toxinas (ALAM; ASHRAF, 2003).

Diarreia exsudativas estão sempre associadas a danos da mucosa, cuja lesão pode ser limitada à membrana das microvilosidades do epitélio ou ser extensa, com a descamação do epitélio e formação de úlceras. Tais danos levam ao extravasamento de muco, líquido, sangue e proteínas plasmáticas, com o acúmulo líquido e eletrólito no intestino. Clinicamente, manifesta-se como desintéria. Os principais agentes causadores são: *Entamoeba histolytica*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Campylobacter*, *E. coli enteroinvasiva*, *E. coli*

enterohemorrágica e também *Yersinia* e *Vibrio spp.* (BARBUTI, 2008; CHENG; McDONALD; THIELMAN, 2005; DECHER; KRENITSKY, 2012).

Na diarreia motora ocorre um aumento na velocidade do transito gastrointestinal pela presença de grandes volumes na luz intestinal ou pela presença de toxinas e fármacos, que alteram o estímulo normal da peristalse intestinal (OLIVEIRA, 2003).

1.1.3 Diarreia Aguda

A diarreia aguda pode ser causada por mais de 200 tipos de microorganismos, entre vírus, parasitas e bactérias, onde, dependendo do agente, as manifestações podem ser decorrentes de mecanismo secretório provocado por toxinas ou pela colonização e multiplicação do agente na parede intestinal, levando à lesão epitelial. Quanto maior for a concentração de toxinas ou microorganismos, maior será a chance de vencerem a acidez do estômago e alcançarem o intestino (BRASIL, 2010).

Com relação a diarreia aguda causada por infecções virais, elas são predominantes nos países desenvolvidos, com boas condições sanitárias e de higiene (WGO, 2012; MORAES; CASTRO, 2014), sendo o Rotavírus o principal agente causador, principalmente em crianças, no período de seis meses até dois anos, independentemente de sua classe social (CDC, 2014). A infecção por esse vírus é responsável por um número significativo de mortes nos países desenvolvidos, estimando-se aproximadamente 500 mil mortes/ano (MORAES; CASTRO, 2014). No Brasil ocorre um aumento na incidência dos rotavírus entre maio e setembro nos estados das regiões Central e Sudeste, mas por outro lado, no Norte e Nordeste a ocorrência de rotavírus se distribui durante todo o ano (ADOLFO; VIGILÂNCIA; ALEXANDRE, 2004). Devido ao poder de disseminação e a dificuldade de realizar a terapia de reidratação oral, por causa da presença de vômitos, o tratamento da doença causada pelo vírus é difícil (PARASHAR et al., 2006).

Outra grande parte dos casos de diarreia aguda tem como responsáveis as infecções parasitárias, constituindo-se um grave problema de saúde pública nos países em desenvolvimento, apresentando-se fortemente associadas às más condições sanitárias e socioeconômicas, sendo transmitidas por contato direto fecal-oral ou contaminação de alimentos e água (MOTTA; SILVA, 2002). Como na maioria das diarreias infecciosas, as crianças representam o grupo mais vulnerável ao desenvolvimento das parasitoses, uma vez que se expõem mais aos meios de contaminação, como solo e água, sem tomar medidas

adequadas de higiene pessoal (ARAÚJO FILHO et al., 2011; MORAES; CASTRO, 2014). Dentre as parasitoses, a amebíase, causada por um parasita chamado *Entamoeba histolytica*, e a giardíase, causada pelo parasita *Giardia lamblia* são as mais predominantes (MOTTA; SILVA, 2002; BRASIL, 2010).

Causadoras de várias doenças infecciosas, as bactérias são seres unicelulares transmitidas pelo ar ou por contato direto (gotículas de saliva ou muco) ou indireto, podendo ser encontradas no intestino, trato genital masculino e feminino, nariz, boca, pulmão, mãos do homem, alimentos e ambiente, e algumas produzem substâncias de efeito tóxico para o homem (BENETTI; BRANCO; COMENALE, 2013).

Dentre as bactérias causadoras de diarreia aguda, os grupos da *Escherichia coli* são um grupo grande e diversificado, que podem causar desde diarreias, até infecções urinárias, doenças respiratórias e pneumonia (CDC, 2016), onde diarreia sanguinolenta com colite hemorrágica, febre e cólicas abdominais podem ocorrer na infecção por *E. coli* enterohemorrágica (ECEH), e diarreia aquosa em crianças na infecção por *E. coli* enteroagregativa (ECEA) (BARBUTI, 2008).

Bactérias como a *Escherichia coli* são cada vez mais reconhecidas como uma grande preocupação de saúde pública, pois o potencial dessa bactéria para causar infecções variadas, associadas com vários mecanismos de resistência aos antibióticos, representa um desafio para estratégias de gerenciamento de doenças (BAJAJ, et.al., 2016). Em países pobres, com condições desfavoráveis ou insuficientes de saneamento básico, as *E. coli* patogênicas intestinais, enterotoxigênica (ETEC) e enteropatogênica (EPEC), têm sido reconhecidos como as causas mais comuns de gastroenterite bacteriana (BAJAJ; SINGH; VIRDI, 2016).

A presença em grande quantidade de *E. coli* não patogênica na água, indica a possibilidade da existência de microorganismos patogênicos, responsáveis pela transmissão de doenças de veiculação hídrica (ex: desintéria bacilar, febre tifóide, cólera) (BRASIL, 2016), onde a falta de monitoramento das fontes de água e a falta de conhecimento, por parte da população, das causas e problemas relacionados à contaminação da água, favorece para o aumento das doenças transmitidas por ela (CAVALCANTE, 2014).

A *Salmonella* spp. é uma bactéria entérica responsável por graves intoxicações alimentares, cuja presença em alimentos é um relevante problema de saúde pública e a maioria dos sorotipos desse gênero são patogênicos ao homem (SHINOHARA, et.al., 2008). A principal via de transmissão é a oral-fecal, normalmente pela ingestão de alimentos ou água contaminados ou pelo contato direto com animais infectados (CARVALHO, 2006). As doenças causadas por *Salmonella* podem ser subdivididas em 3 grupos: a febre tifóide, causada por *Salmonella fyphi*,

as febres entéricas causadas por *Salmonella paratyphi* (A, B e C) e as enterocolites (ou salmoneloses), causadas pelas demais salmonelas (BRASIL, 2011).

Enterococcus faz parte do grupo dos cocos Gram-positivos agrupados em cadeia, anaeróbios facultativos e catalase negativa e as duas espécies mais importantes, *E. faecium* e *E. faecalis*, estão frequentemente implicadas em infecções em animais e humanos imunocomprometidos, como bacteremia, septicemia, infecções do trato urinário, infecções de feridas, meningites e endocardites (CAUWERTS et al. 2007, GAMA 2008, KENSE et al. 2011, ZOU et al. 2011). No Brasil, há poucos levantamentos a respeito da ocorrência de cepas de *Enterococcus* em alimentos de origem animal, tendo sido os relatos clínicos os mais publicados, em que se analisam cepas isoladas de pacientes humanos em hospitais (DE CAMPOS et.al., 2013). A maior parte das infecções tem como origem a microbiota normal do paciente, embora os microorganismos possam também ser transferidos de paciente para paciente ou adquiridos através do consumo de água ou alimentos contaminados (MURRAY, 2004).

Outra forma preocupante de diarreia é a diarreia nosocomial, de origem hospitalar, com causas e consequências pouco documentadas. Caracteriza-se pelo aparecimento de diarreia após 72h de internação, em sua maioria devido ao uso de antibióticos, com mais de 2 evacuações de fezes aquosas ou amolecidas por pelo menos 2 dias (RIBEIRO et. al., 1998), onde quanto maior o tempo de permanência hospitalar, maior o risco de infecções hospitalares. O principal agente causador de diarreia nosocomial é o *Clostridium difficile* (CHENG; McDONALD; THIELMAN, 2005), porém o *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus* são microorganismos oportunistas, também responsáveis por infecções hospitalares, através de cateteres e sondas, estando indiretamente relacionada aos episódios de diarreia. Eles são capazes de formar biofilmes, aglomerações multicelulares superficiais de microorganismos, que dificultam a chegada de drogas antimicrobianas (OTTO, 2009; DOS SANTOS, 2007). A *Klebsiella pneumoniae* é um bacilo gram-negativo presente no trato gastrointestinal de indivíduos saudáveis, associado a infecções hospitalares, principalmente em unidades neonatais de terapia intensiva, com elevada progressão de resistência aos antibióticos (CASSETARI, et.al., 2018).

Diversas outras bactérias patogênicas estão associadas ao quadro de diarreia aguda. Os principais agentes etiológicos bacterianos, causadores da diarreia aguda estão resumidos no Quadro 1 abaixo.

Quadro 1. Principais agentes infecciosos de etiologia bacteriana

Microorganismos	Forma de transmissão	Manifestações clínicas	Referências
<i>Aeromonas</i> spp.	Água e alimentos contaminados	Diarréia com ou sem presença de sangue	VILLA et.al, 2003; <u>BIZANI; BRANDELLI, 2001</u> ; <u>JANDA; ABBOTT, 2010</u> ; IGBINOSA, et.al., 2012
<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>Campylobacter coli</i>	Alimentos contaminados ou por contato com fezes de animais infectados	Assintomática Às vezes é acompanhada de diarreia aquosa e desintéria	SKARP; HÄNNINEN; RAUTELIN HI, 2015; WGO, 2012
<i>Clostridium difficile</i>	Fecal-oral	Diarreia aquosa, febre, náuseas, dor e distensão abdominal; diarreia nosocomial	ROCHA; SIDRIM; LIMA, 1999; OFOSU, 2016
<i>Escherichia coli</i>	Água e alimentos contaminados	Diarreia aquosa, Diarreia com muco, colite hemorrágica, dores estomacais, vômitos	CDC, 2016
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Pessoas contaminadas, assepsia incorreta	Diarréia nosocomial, febre	NOGUEIRA; SUASSUNA, 1983; ESCOBAR et.al., 1996
<i>Samonella</i> ssp.	Água e alimentos contaminados	Episódios agudos de náuseas, vômito e diarreia aquosa ou disentérica	GREGORY et al., 2014; WGO, 2016
<i>Shigella</i>	Água e alimentos contaminados	Desintéria, diarreia	BARBUTI, 2008; BRASIL, 2010; GARDENAL, 2012
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ingestão de alimento contendo a enterotoxina estafilocócica	Náusea, vômitos, cólicas e diarreia	SANTOS, et.al., 2007; RODRIGUES, et.al, 2004
<i>Vibrio cholerae</i>	Água e alimentos contaminados ou fezes e vômitos de doente ou portador	Assintomática, porém pode causar diarreia secretória Fezes volumosas, vômitos, choque hipovolêmico e acidose	BRASIL, 2010; FINKELSTEIN, 1996
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Ingestão de alimentos marinhos crus ou malcozidos ou de procedência duvidosa	Gastroenterite	PEREIRA et al., 2007; LETCHUMANAN; CHAN; LEE, 2014)

1.2 TRATAMENTOS ATUAIS PARA DIARRÉIA

Atualmente não existem tratamentos específicos para a diarreia, sendo propostos a reduzir as dores abdominais, assim como a desidratação e o desconforto ocasionado pelo aumento no número de evacuações. Diante disso, para que uma droga seja considerada antidiarreica, é necessário que a mesma promova redução dos efeitos característicos da diarreia, ou seja, deve aumentar a absorção, ou reduzir a secreção intestinal e/ou ainda diminuir a propulsão intestinal.

Em 1989 a OMS publicou um manual prático para o tratamento de diarreia e ao longo dos anos subsequentes, esse manual foi revisado e modificado de acordo com a realidade mundial. No Brasil, o Ministério da Saúde adaptou o manual a realidade brasileira, incluindo modificações na reidratação oral, recomendação da administração de zinco via oral e inclusão da vacina contra rotavírus no calendário brasileiro de vacinação. Além disso, foram propostas diretrizes para o tratamento da diarreia aguda na Europa e para crianças Íbero-Latinoamericanas com base em evidências clínicas com o objetivo de contribuir na redução dos impactos negativos causados pela diarreia aguda (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2017).

O tratamento clínico da diarreia aguda preconizado pela Organização Mundial de Saúde limita-se, basicamente, a Terapia de Reidratação Oral (TRO), uma solução balanceada de sódio-glicose que permite uma absorção ótima de eletrólitos, que reduziu a mortalidade infantil nos países em desenvolvimento em pelo menos 50% (VICTORA et.al., 2000).

Segundo Gangarosa et.al. (1992), o maior benefício da reidratação oral é o tratamento de formas desidratantes de diarreia em lactentes e crianças pequenas nos países em desenvolvimento. A recomendação para o seu uso em diarreia grave é uma reidratação oral equilibrada, composta por sódio de 60-75 mEq / l e glicose de 75-90 mmol / l (DUGGAN, 2004). Novas pesquisas em SRO estão em andamento, com o objetivo de tratar formas mais severas de diarreias, prevenindo sintomas leves e moderados de desidratação, e até mesmo formas de diarreia semelhantes a cólera (BINDER, et.al, 2014), pois a TRO não reduz a saída de fezes e duração da diarreia, logo, outras abordagens têm sido estudadas.

Um fator coadjuvante no tratamento das diarreias são os probióticos, microorganismos vivos que, quando consumidos em quantidades adequadas, proporcionam efeito benéfico para a saúde do indivíduo ao interagirem com a microbiota intestinal, pois esta exerce várias ações no intestino, que repercutem em vários órgãos do indivíduo (HILL et.al., 2014). Supostamente, os probióticos atuam proibindo a aderência dos patógenos a mucosa intestinal, aumentando a resposta imune e ajudando a restabelecer a microflora (FAO/WHO, 2002), porém o seu uso

específico no tratamento de diarreia aguda em adultos não é recomendado, exceto nos casos de doença associada a antibioticoterapia (RIDDLE et.al., 2016).

Devido ao fato de grande parte dos episódios de diarreia aguda serem autolimitados e terem como agentes causadores os vírus, os antibióticos não são empregados no tratamento de diarreia. O uso de antibióticos na diarreia aguda está restrito aos pacientes que apresentam diarreia com sangue nas fezes (disenteria), na cólera, na infecção aguda comprovada por *Giardia lamblia* ou *Entamoeba histolytica*, em pacientes imunossuprimidos, com anemia falciforme, portadores de prótese e nas crianças com sinais de disseminação bacteriana extra-intestinal. Outros agentes podem necessitar de antibióticos, quando causam casos graves, como, por exemplo, a *E. coli enteroinvasiva*, *Yersinia*, *V. cholerae*, *C. difficile*, Salmonela não tifoide (SBP, 2017).

O uso de medicamentos antidiarreicos comumente utilizados, como a loperamida, difenoxilato e antimicrobianos, podem não ser seguros ou serem ineficazes. No caso específico da loperamida, muitos estudos têm demonstrado efeitos colaterais em crianças, como letargia, depressão respiratória e coma (AAP, 1996), depressão do sistema nervoso central, inchaço e constipação, não sendo recomendado o seu uso no tratamento de diarreia aguda em crianças (MITTAL; MATHEW, 2001).

Os antimicrobianos, substâncias que agem sobre microorganismos, inibindo o seu crescimento ou causando a sua destruição, podendo ser naturais ou sintéticos, tem como principal objetivo prevenir ou tratar uma infecção, diminuindo ou eliminando os organismos patogênicos (SÁEZ-LLORENS, et.al., 2006), porém o surgimento e a disseminação de microorganismos resistentes aos antimicrobianos disponíveis no mercado têm levado a investigação e a busca de novos compostos capazes de agir contra esses microorganismos patogênicos.

Ensaio biológico em modelos experimentais animais têm sido utilizados para investigar a bioatividade e os efeitos, sobre a função intestinal, de plantas tradicionalmente utilizadas para tratamentos da diarreia. Os extratos de plantas podem ter efeitos antiespasmódicos, atrasar o trânsito gastrointestinal, suprimir a mobilidade intestinal, estimular a adsorção de água ou reduzir a secreção eletrolítica (PALOMBO, 2006), além de inibir o crescimento microbiano (MICHELIN, et.al., 2005).

Os produtos naturais derivados de plantas medicinais provaram ser uma fonte abundante de compostos biologicamente ativos e estudos científicos mostram que a investigação fitoquímica de extratos de plantas revelou a presença de inúmeros compostos químicos, incluindo alcalóides, taninos, flavonóides, esteróis, terpenos, carboidratos, lactonas, proteínas, aminoácidos, glicosídeos e saponinas. Dentre esses, os taninos, flavonóides, fenólicos e

alcalóides são responsáveis pela atividade antidiarreica, onde as investigações sobre o modo de ação, indicam que taninos e flavonóides aumentam a água colônica e reabsorção eletrolítica, e outros fitoquímicos agem inibindo a motilidade intestinal (PALOMBO, 2006).

A inibição do crescimento bacteriano por um extrato vegetal pode ter várias explicações, como por exemplo, as ações em conjunto dos metabólitos secundários presentes na planta, onde a ação não se limita a apenas componente ativo e sim um grupo ou uma reunião deles, que é denominado de fitocomplexo. Fitocomplexos são definidos como substâncias originadas no metabolismo primário e/ou secundário das plantas, responsáveis, em conjunto, pelos efeitos biológicos de uma planta medicinal ou de seus derivados (ANVISA, 2010). Cada substância do fitocomplexo atua como substância coadjuvante, agindo sinergicamente. A ciência pesquisa o conhecimento popular das plantas para, então, isolar o que se considera o princípio ativo eficaz e de importância terapêutica e comercial, e a partir desse ponto, sintetiza-lo em laboratório.

Se faz importante ressaltar que a ausência ou presença de certos constituintes químicos determinados na fitoquímica podem ser explicadas pela época ou horário da colheita, pelo manejo e acondicionamento da planta ou pela degradação dos constituintes por fatores ambientais (SIMÕES et.al, 2004).

1.3 FAMÍLIA, GÊNERO E ESPÉCIE.

1.3.1 Família Sapotaceae

Sapotaceae é uma família de plantas lenhosas, representada no Brasil por 11 gêneros e cerca de 230 espécies, muitas das quais com madeira e látex explorados comercialmente (FABRIS; PEIXOTO, 2013). Segundo Pennington (1990), a família Sapotaceae ocorre preferencialmente em florestas úmidas e seu principal centro de diversidade é a América tropical, destacando-se os gêneros *Pouteria Aubl.* e *Chrysophyllum L* (HERNANDEZ, 2009).

Dentre os 11 gêneros encontrados no Brasil estão: *Chromolucuma*, *Chrysophyllum*, *Diploo*, *Ecclinusa*, *Elaeoluma*, *Manikara*, *Micropholis*, *Pouteria*, *Pradosia*, *Sarcaulus* e *Sideroxylon*. Os representantes da família são árvores ou arbustos com tronco bem definido, as folhas são simples com pecíolos, bases e ápices com um amplo espectro de variação e a morfologia dos frutos, de polpa gelatinosa e adocicada, é a principal responsável pela atração de aves, macacos, morcegos e até mesmo roedores (PENNINGTON, 1990).

Algumas das espécies do gênero, como “Sapoti”, “Sapodilla” (*Manilkara zapota* (L.) P. Royen), o “Abiu” (*Pouteria* spp.), o “Abriçó-de-praia” (*Manilkara subsericea* (Mart.) Dubard), a “Canista” (*Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni) são apreciadas pelo seu potencial alimentício, bem como seu caráter medicinal contra infecções respiratórias e digestivas, com ação antiinflamatória, antidisentérica e antitérmica (ARAÚJO, 2012).

Uma classe de substância presente na família Sapotacea é a dos triterpenos, que apresenta várias atividades biológicas descritas na literatura, bem como alcaloides, poli-isoprenos e compostos fenólicos (PENNINGTON, 1990), entretanto poucas espécies foram estudadas, no que diz respeito a sua composição química e propriedades biológicas (SILVA; SIMEONI; SILVEIRA, 2009).

Segundo artigos já publicados, os compostos fenólicos podem inativar as enzimas e proteínas transportadoras da parede celular de microorganismos, sendo assim tóxico para os mesmos, e muitos têm seu sítio de ação na membrana plasmática, alterando o transporte ativo e coagulando o conteúdo celular ao alterarem a estrutura e função da membrana (SIKKEMA et.al, 1995; BURT, 2004). Flavonóides podem interferir na expressão de genes ao se complexar com as proteínas extracelulares dos microorganismos e os flavonoides lipofílicos podem romper a membrana plasmática microbiana (COWAN, 1999; KIM, et.al., 2004; FABRI; COSTA, 2012).

1.3.2 Gênero *Pouteria*

O nome *Pouteria* foi citado pela primeira vez em 1775, por Jean Baptiste Aublet, na obra “Histoire des plantes de la Guiane”, ao descrever a *Pouteria guianensis*, e desde então tem sido delineada de várias formas durante o último século, onde no Brasil estima-se a ocorrência inúmeras espécies. (ARAÚJO, 2012). A maioria ocorre nas regiões de floresta úmida, mas também são encontradas em áreas com solo arenoso ou argiloso, sendo frequentes na Amazônia, Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo (PENNINGTON, 1990; CASTRO et al., 2006). Morfologicamente é de porte arbóreo com ocorrência de alguns arbustos, com a presença de folhas espiraladas e sendo suas flores compostas entre 4-6 sépalas livres (PENNINGTON, 1990).

Algumas atividades biológicas são reportadas às espécies desse gênero, tais como, antioxidante, anti-inflamatória, antibacteriana e antifúngica (SILVA, 2007). Triterpenóides (triterpenos em forma de ésteres ou cadeia largas), esteróides e flavonoides são os principais

constituintes deste gênero e as várias espécies de *Pouteria* fornecem frutos comestíveis, com uma rica composição de óleos essenciais, já analisados em quatro espécies: *Pouteria* (Duke) Baehni, *P. caimito*, *P. sapota* e *Pouteria splendens* (A. DC.) Kuntze (SILVA; SIMEONI; SILVEIRA, 2009).

Estudos fitoquímicos realizados com diferentes partes das plantas do gênero, como flores, frutos, ramos, cascas, sementes e raízes, foram realizados, evidenciando a presença de diversos compostos, sendo o α e β amirina, lupeol, taraxerol e ácido gálico os mais frequentemente encontrados e os compostos químicos da espécie de *Pouteria* isolados até o presente momento se encontram resumidos no Quadro 2 (adaptada de SILVA; SIMEONI; SILVEIRA, 2009). Os metabólitos secundários presentes neste gênero podem explicar algumas das atividades biológicas já comprovadas, como antimicrobiana, antiinflamatória e antioxidante, e os estudos dessas atividades biológicas de diversas espécies de *Pouteria* encontram-se resumidos no Quadro 3.

Quadro 2. Espécies de *Pouteria* quimicamente estudadas e seus compostos.

Espécie	Compostos
<i>Pouteria caimito</i> (Ruiz & Pav.) Radlk	α -amirina; Lupeol; dammaremediol; taraxerol; taraxenona; β -sitosterol; α -copaeno; espinasterol; eritrodiol
<i>Pouteria cambodiana</i> (Pierre ex Dubard) Baehni	Ácido protocatecico
<i>Pouteria campechiana</i> (Kunth) Baehni	Ácido gálico; (+) -galocatequina; (+) -catequina; (-) -epicatequina; (+) -catequina-3-O-galato; dihidromericetina; miricitrina; Ácido protocatecico
<i>Pouteria gardnerii</i> (Mart. & Miq.) Baehni	α -aminina; β amirina; α -amirina acetato; Lupeol acetato; ácido betulínico; ácido ursólico
<i>Pouteria mammosa</i> (L.) Cronquist (sin. <i>Achras mammosa</i> L. and <i>Calocarpum mammosum</i> Pierre)	Eritrodiol; lucumina
<i>Pouteria pariry</i> (Ducke) Baehni	Metil 2- metilbutanoato; metil 2- metiltiopropionato
<i>Pouteria sapota</i> (Jacq.) H. E. Moore et Stern (<i>Calocarpum sapota</i> (Jacq.) Merr. and <i>Sideroxylon sapota</i> Jacq.)	Ácido gálico; (+) -galocatequina; (+) -catequina; (-) -epicatequina; (+) -catequina-3-O-galato; dihidromericetina; miricitrina; lucumina; ácido lucuminico; lucuminamida
<i>Pouteria splendens</i> (A. DC.) Kuntze	cis , trans- α - farnesol; trans- erolidol; cis - β – elemeno; germacreno D; β – selineno; eremophilene; δ – cadineno; 10 - epi - α – cadinol; 10 - epi - α – muurolol; epi – globulol; globulol; Ledene; palustrol; isophytol; trans- fitol
<i>Pouteria subrotata</i> Cronquist	Lucumina
<i>Pouteria tomentosa</i> (Roxb.) Baehni	α -aminina; β amirina; ácido betulínico; ácido ursolínico
<i>Pouteria torta</i>	α -aminina; β amirina; lupeol; taraxasterol;
<i>Pouteria venosa</i> (Mart.) Baehni	Taraxasterol; ácido ursólico; taraxerol; espinasterol; ácido miriantico; ácido 19 α ,23-dihidroursólico
<i>Pouteria viridis</i> (Pittier) Cronquist (sin. <i>Calocarpum viride</i> Pittier)	Ácido gálico; (+) -galocatequina; (+) -catequina; (-) -epicatequina; (+) -catequina-3-O-galato; dihidromericetina; miricitrina;
<i>Pouteria vitiensis</i> (Gillespie) O.Deg.	Espinasterol; sucrose vaniloil; mio-inositol

Fonte: SILVA; SIMEONI; SILVEIRA, 2009 (adaptada)

Quadro 3. Espécies de *Pouteria* e suas atividades biológicas estudadas

Espécie	Parte	Atividades biológicas já descritas	Referências
<i>Pouteria caimito</i> (Ruiz & Pav.) Radlk	Folhas	Antioxidante, atividade alelopática inibitória, antiinflamatória (redução de óxido nítrico); atividade fotoprotetora contra raios UVA e UVB	Castro et.al.,2004; Condessa, 2011; Barreiros; Barreiro, 2011; Evangelista, 2017; Silva et.al., 2009
<i>Pouteria cambodiana</i> (Pierre ex Dubard) Baehni	Casca	Imunomodulação, antioxidante, cel.antiproliferativas	Manosroi et.al, 2006
<i>Pouteria campechiana</i> (Kunth) Baehni	Suco da fruta Folhas	Antioxidante, antinitrosativa, antimitótica	Franco, 2006 Hernandez et.al., 2008
<i>Pouteria glomerata</i>	Casca+polpa	Antimicrobiana	Okoba, 2016
<i>Pouteria grandiflora</i>	Folhas	Antimicrobiana, anti dano de DNA	Agripino et.al., 2004
<i>Pouteria gardnerii</i> (Mart. & Miq.) Baehni	Folhas	Antimicrobiana, antioxidante	Silva, 2007
<i>Pouteria guianensis</i>	Madeira	Embriotoxicidade para <i>Crassostrea gigas</i>	Libralato et.al., 2007
<i>Pouteria lucuma</i>	Fruto (mesocarpo)	Antioxidante, antihiperglicêmica, cicatrização de feridas	Fuentealba et.al., 2016; Rojo et.al., 2010
<i>Pouteria macrophylla</i>	Casca e polpa	Antioxidante	Silva, 2011
<i>Pouteria pallida</i>	Não informa	Antimicrobiana	Humason, 2005
<i>Pouteria psamophila</i>	Folhas, madeira	Antimicrobiana, anti dano de DNA, Fungicida	Agripino et al., 2004 Costa et al., 2003
<i>Pouteria ramiflora</i>	Folhas	Antioxidante, antiinflamatória, antinoceptiva, toxicidade para larvas de <i>Artemia salina</i> , antifúngica, fungistática; antimicrobiana; ação neuroprotetora	Fontes-Junior, 2004; Nunes, 2004; Castro et al., 2006; Nogueira, 2012; Gomes, 2013, Oliveira et.al., 2017; Costa et.al., 2013; Rodrigues et.al., 2017
<i>Pouteria reticulata</i>	Casca	Antimicrobacteriano	Graham et al., 2003

Fonte: A autora

Quadro 3. Espécies de *Pouteria* e suas atividades biológicas estudadas (continuação)

<i>Pouteria sapota</i>	Suco da fruta, sementes	Antioxidante	Franco, 2006; Palomino et al., 2006; MA et.al., 2004; Yahia et.al., 2011
<i>Pouteria splendens</i> (A. DC.) Kuntze	Caule, folhas	Atividade trypanocida <i>in vitro</i> , inibição da germinação	Abe et al., 2002, Bustamante et al., 2007
<i>Pouteria torta</i>	Folhas, sementes, epicarpo	Antioxidante, toxicidade para larvas de <i>Artemia salina</i> , antimicrobiana, antibacteriana e antifúngica, inibição do germinação e crescimento, antagonismo de estrogênio, habilidade de indução de aglutinação de eritrócitos de humanos, coelhos e ratos, hipoglicemiante, ação contra <i>E.coli</i>	Alves et al., 2000; Franzotti, 2004; Lopez, 2005; Perfeito et al., 2005; Castro et al., 2006; Nascimento et al., 2007; Sales, 2017; Alves et.al., 2000; Nogueira, 2012; Condessa, 2011; Lopez, 2005; Alves, 2005
<i>Pouteria venosa</i> (Mart.) Baehni	Folhas, casca, casca do caule	Antioxidante, antimalárica <i>in vivo</i> , antimicrobiana, Anti-HIV,	Montenegro et.al., 2006; Santos, 2014; Santos, 2015; Bedoya et al., 2008
<i>Pouteria viridis</i> (Pittier) Cronquist (sin. <i>Calocarpum viride</i> Pittier)	Suco do fruto, casca, casca do caule	Antioxidante, Anti-termite	Franco, 2006; Palomino et al., 2006; MA et.al., 2004; Barbosa et.al., 2007

Fonte: A autora

Os triterpenos são compostos de origem animal e vegetal, que apresentam comprovada atividade antiinflamatória, antibacteriana, antifúngica, antiviral, analgésica, cardiovascular, antitumoral e anti-HIV (PATOČKA, 2003) e muitos terpenos mostraram serem ativos contra uma variedade de microorganismos, como bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e também em fungos (TROMBETTA, et.al.; 2005).

A α -amirina, triterpeno já isolado na espécie *Pouteria caimito*, possui diversas atividades biológicas e dentre elas está a atividade antiinflamatória (RAJIC e KWEIFIO-OKAI, 2000). Outro triterpeno encontrado na espécie é o lupeol, composto que já mostrou possuir diversas atividades farmacológicas *in vivo* e *in vitro* (WALL, et.al., 2011), como atividade antiinflamatória (GUPTA, et.al., 1969; NIKIEMA et.al., 2001), antimicrobiana (SHAI, 2008), anticancerígena, antibiótica e antimalárica (FREIRE, et.al., 2004). Devido à sua distribuição

generalizada em diversas famílias de plantas, esses compostos são mais fáceis de obter do que a maioria dos tratamentos atualmente disponíveis (WALL, et.al., 2011).

Os flavonóides inibem a diarreia induzida por óleo de rícino (POLOMBRO, 2006), como é o caso da quercetrina, quercetina e ternatina (GALVEZ et al., 1996) e tal atividade foi observada através de experimentos de diarreia crônica em ratos e motilidade do trânsito intestinal de camundongos (GALVEZ et al., 1993). Os taninos, pertencente ao grupo dos compostos flavonóides, também apresentam atividade antidiarreica (RAO et al., 1997). Com relação a ação antimicrobiana conferida aos taninos, bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia*, *Bacillus anthracis* e *Shigella dysenteriae* são sensíveis aos mesmos (CASTRO, 1999).

Apesar de várias espécies do gênero *Pouteria* produzirem frutos comestíveis, como *P. caimito* (abiu), *P. macrocarpa* (cutito), *P. macrophyla* (caimo) e *P. sapota* (sapota), poucas referências quanto as atividades farmacológicas ou metabólitos secundários da espécie *P. caimito* são encontradas.

1.3.3 Espécie *Pouteria caimito*

Nos dias atuais, diversos países desenvolvidos importam um grande número de espécies frutíferas das regiões tropicais e subtropicais, devido seu alto aproveitamento comercial oriundo dos frutos e nozes de excelente qualidade (MARTEL, 1992).

Inserido nessas espécies frutíferas está o abiu (Figura 1), palavra que vem do Tupi Guarani e significa “Fruta Bicuda”, recebendo também o nome de “Abieiro”, “Abio”, “Abiu Ticuna” e “Caimito amarelo”, pertencente da família das Sapotáceas, originária do Peru e perfeitamente aclimada em nosso país (BALBACH, 1975). No Brasil está presente em quase todos os estados brasileiros, onde seu consumo é mais difundido nos estados da região Norte, mais especificamente no Acre, Amapá e Pará (NASCIMENTO, 2011), sendo popularmente utilizado no tratamento de anemia, diarreia, disenteria, dor de ouvido, malária, otite, candidíase oral (“sapinho” em boca de criança), hordéolo (terçol), afecções pulmonares como pneumonia e bronquite e desnutrição (CARVALHO, 2010).

Figura 1 Representação da espécie *Pouteria caimito* (A) e abieiro no qual foi realizada a coleta dos frutos (B)



Fonte: Disponível em: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-163977> acesso: 12/09/17 (A) e a Autora (B).

A árvore da espécie *Pouteria caimito* apresenta porte médio a alto, 3 a 10 metros de altura, com frutos bagas, de forma ovóides com tamanho entre 6 e 9 centímetros no comprimento, peso médio de 150 a 250 gramas (MANICA, 2000), de superfície lisa, amarela, brilhante e polpa esbranquiçada e doce (BALBACH, 1975), frutífera durante o ano todo, apresentado melhor crescimento nas áreas de solo úmidos (MORTON, 1987). Ela é facilmente encontrada por toda a Amazônia, porém alguns abieiros fazem parte da arborização urbana de algumas regiões ao norte do Brasil (RODRIGUES, 2009).

A fruta fresca leva aproximadamente cinco dias para o amadurecimento completo, à temperatura ambiente e devem ser colhidas no estágio apropriado, para em seguida serem armazenadas a 10°C e comercializadas, pois apresentam vida de prateleira de 7 a 14 dias. O fruto deve ser manuseado com cuidado, embaladas em bandejas de poliestireno ou caixas de papelão, pois a casca é muito suscetível a choques mecânicos (RODRIGUES, 2009).

Embora pouco explorada comercialmente, o abiu é uma fruta bastante consumida nos trópicos na forma *in natura* podendo, porém, ser processada como geléia, suco, doces ou sorvete. Considerados um dos frutos mais saborosos da família Sapotaceae devido ao seu sabor doce, no Brasil, seu consumo é mais difundido nos estados da região Norte, mais

especificamente no Acre, Amapá e Pará (NASCIMENTO, 2011). Seu consumo deve ser estimulado devido as suas propriedades nutricionais, pois é uma boa fonte energética, boa fonte de fibras, vitamina C e potássio, como mostra a **Tabela 1** abaixo.

Tabela 1. Composição centesimal da parte comestível do fruto *Pouteria caimito*

		% V.D.
Valor energético	62kcal = 262kj	3%
Carboidratos	14,9g	5%
Proteínas	0,8g	1%
Lipídeos	0,7g	-
Gorduras saturadas	0,3g	1%
Gorduras monoisaturadas	0,1g	-
Gorduras polinsaturadas	0,1g	-
Fibra alimentar	1,7g	7%
Fibra solúvel	0,1g	-
Cálcio	5,8g	1%
Vitamina C	10,3mg	23%
Piridoxina B6	0,1mg	8%
Fósforo	20,3mg	3%
Manganês	0,1mg	4%
Magnésio	9,3mg	4%
Ferro	0,2mg	1%
Potássio	128,3mg	-
Cobre	0,1ug	0%
Zinco	0,1mg	1%
Riboflavina B2	0,0mg	0%

Fonte: Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO, 2006.

Além do seu caráter alimentício, o abiu é utilizado com finalidade medicinal há décadas, onde o azeite extraído das sementes é usado como emoliente nas afecções inflamatórias e quando aplicado em gotas é bom contra as otites e otalgias (BALBACH, 1975). No Brasil é utilizado para alívio de sintomas pulmonares como a bronquite, sendo também utilizado para aliviar sintomas da tosse, diarreia, febre, no combate a anemia e como anti-inflamatório (MORTON, 1987).

A presença de lupeol, α - amirina, eritrodiool e Dammarendiol II foi revelada na investigação fitoquímica do extrato benzênico do fruto da *Pouteria caimito* (PELLICCIARI; ARDON; BELLAVISTA, 1962) e da sua casca foram isolados: taraxerol, taraxeno-3-ona e β -sitosterol (ARDON; NAKANO, 1973). Os triterpenos, isolados na espécie, são substâncias relacionadas a diversas atividades biológicas como: antiinflamatória, anti-helmíntica, antitumoral, estrogênica e de inibição enzimática (CONDESSA, 2011). A atividade antioxidante dos extratos hidro-alcoólicos da *Pouteria caimito* foi estudada e demonstrou-se o potencial do uso dele como fonte dietética de antioxidantes naturais (BARREIROS; BARREIROS, 2011). Outro estudo mostrou a presença de alguns compostos voláteis, isolados

do fruto, sendo os mais abundantes o α -copaeno (30,5%), hexadecil acetato (20,9%) e ácido palmítico (13,6%) (MAIA, 2003).

Apesar das indicações de uso, não há descrição na literatura de estudos que validem a ação desta planta sobre a motilidade gastrointestinal e apesar do difundido uso etnofarmacológico para o tratamento de distúrbios gastrointestinais, é importante ressaltar que estudos tanto pré-clínicos quanto clínicos são imprescindíveis para a validação dos seus efeitos bem como a avaliação da toxicidade favorecendo o uso seguro por parte da população. Se mostrou importante investigar o fruto da espécie *Pouteria caimito* devido ao fato de já terem sido reportadas atividades biológicas para inúmeras espécies da família Sapotacea e para o gênero *Pouteria*, sendo relevante investigar, pela primeira vez, se o extrato metanólico apresentaria efeito antidiarreico frente aos modelos apresentados.

2.1 OBJETIVO GERAL:

Avaliar as atividades antimicrobiana, *in vitro*, e antidiarreica, frente a modelos animais, do extrato metanólico das cascas do fruto *Pouteria caimito*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Obtenção do extrato metanólico da casca do fruto *Pouteria caimito* (EMPC) e determinação de seu rendimento;
- Fracionamento do extrato bruto em baixa, média e alta polaridade e determinação de seus rendimentos;
- Avaliar a influência do extrato sobre a modulação da defecação normal em camundongos;
- Investigar o efeito do referido extrato sobre modelo de diarreia induzida por agente catártico em camundongos;
- Avaliar o efeito do extrato sobre o trânsito intestinal estimulado em camundongos;
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima e a Concentração Bactericida Mínima do extrato e frações hexano, clorofórmio e acetato de etila de *P. caimito* frente a bactérias gram positivas e gram negativas.

3.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA DO FRUTO

Os frutos utilizados para os experimentos foram coletados no Município de Santana, Amapá, Brazil (latitude: 0°3'9.24"S/ longitude: 51° 9'57.99"O), e em seguida encaminhados para o Laboratório de Experimentação Animal (LEA) da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP). Uma excisata do espécime foi preparada e identificada, sendo depositada no Herbário Amapaense, no Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá (IEPA), sob número 019138.

3.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO METANÓLICO DAS CASCAS DO FRUTO DE *P. caimito*

As cascas do fruto *P. caimito* foram submetidas a secagem em estufa a 40°C por 72h e após o resfriamento em temperatura ambiente, as cascas secas foram fragmentadas e trituradas em moinho de facas. Em seguida, o material vegetal passou um processo de maceração, utilizando como solvente o metanol (CH₃OH), na proporção 5:1 (p:v) com agitação a cada 24h, durante 7 dias. A solução extrativa foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo a uma temperatura de 40°C.

3.3 OBTENÇÃO DAS FRAÇÕES (PARTIÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO)

A partir do extrato bruto, realizou-se a partição líquido-líquido com solventes, em ordem crescente de polaridade: hexano (C₆H₁₄), clorofórmio (CHCl₃) e acetato de etila (C₄H₈O₂). Inicialmente o extrato bruto concentrado foi ressuscendido em solução de metanol/água (4:6), em seguida realizou-se a partição seriada: em n-hexano (200mL), clorofórmio (200ml) e acetato de etila (200 ml). Posteriormente, todas as frações obtidas foram concentradas em evaporador rotatório e o produto final foi pesado para cálculo do rendimento. Para o cálculo do rendimento foi utilizada a fórmula:

$$\text{Rendimento} = \frac{\text{Peso da fração (g)}}{\text{Peso do extrato (g)}} \times 100$$

3.4 ANIMAIS

Para realização dos ensaios de atividade antidiarreica (modulação fecal normal, diarreia induzida por agente catártico e transito intestinal estimulado) foram utilizados camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*) machos, pesando entre 25 e 35 gramas. Cada protocolo experimental contou com 5 grupos de tratamento: loperamida, veículo, EMPC 30mg/kg, 100mg/kg e 300mg/kg, onde cada grupo era composto por 5 animais, totalizando 25 animais por experimento. Os animais foram mantidos sob condições controladas de temperatura ($25 \pm 1^\circ \text{C}$) e submetidos a um ciclo claro-escuro de 12 horas (6 as 18 horas), tendo livre acesso à alimentação e água.

Antes de cada experimento, os animais foram colocados em gaiolas de polietileno, com grade metálica ao fundo para evitar a coprofagia, bem como a ingestão de maravalha, e submetidos a um jejum de 18 horas, com livre acesso a água.

3.5 ATIVIDADE ANTIDIARREICA DO EXTRATO METANÓLICO DAS CASCAS DE *P. caimito* (EMPC)

A atividade antidiarreica foi avaliada através dos modelos experimentais de modulação da defecação normal, diarreia induzida por agente catártico (óleo de rícino) e trânsito intestinal estimulado, todos utilizando camundongos. Os tratamentos administrados oralmente em cada protocolo experimental foram: EMPC nas doses de 30mg/kg, 100mg/kg e 300 mg/Kg, Loperamida 5mg/kg (controle positivo) e Tween 80 a 5% (grupo controle negativo). Cada camundongo foi isolado em uma gaiola de polietileno com grade metálica ao fundo (GALVEZ et al., 1993). A quantidade total de fezes, de cada grupo, foi contabilizada a cada hora, após os respectivos tratamentos, durante 4 horas.

3.5.1 Avaliação do EMPC sobre a modulação da defecação normal em camundongos

Inicialmente foram administrados os respectivos tratamentos a cada grupo: EMPC (30mg/kg, 100mg/kg e 300mg/kg), loperamida e veículo. Após decorrida uma hora da administração, foi iniciada a contagem do número total de fezes em cada gaiola, sendo repetida a contagem de hora em hora, até quatro horas. O número total de fezes excretadas pelos grupos que receberam extrato foi anotado e comparado com os grupos controle. Os resultados foram expressos em número total de fezes em 4h.

3.5.2 Avaliação dos efeitos do EMPC sobre a diarreia induzida por agente catártico em camundongos

No modelo de diarreia induzida por óleo de rícino em camundongos, utilizamos o modelo proposto por Izzo, et.al. (1992), com modificações. Inicialmente a diarreia foi induzida pela administração oral de óleo de rícino (0,3mL/animal) e após 30 minutos os tratamentos foram administrados: loperamida (5mg/kg), veículo (Tween80® a 5%), EMPC 30mg/kg, 100mg/kg e 300mg/kg. Os animais foram então colocados em gaiolas individuais de polietileno, com papel de filtro ao fundo, sendo este trocado a cada hora. A severidade da diarreia foi avaliada durante 4 horas, em uma escala arbitrária, e foi atribuído a cada animal um escore levando em consideração a consistência das fezes presente em cada papel, como segue: 0 = nenhuma feze; 1 = fezes normais; 2 = fezes diarreicas (moles ou aquosas). O número total de fezes e o número de fezes diarreicas excretadas foram anotados e comparados com a contagem dos grupos controles.

3.5.3 Avaliação do EMPC sobre o trânsito intestinal estimulado em camundongos

Para a avaliação da ação inibitória dos extratos frente ao trânsito intestinal estimulado experimentalmente, foi utilizado o método descrito por Visher e Casals-Stenzel (1983), onde uma suspensão de carvão ativado a 5,0% em Agar 1,5% foi administrada oralmente (0,3 mL/animal) aos grupos testes e controles.

Inicialmente foram administradas as doses do extrato (EMPC 30, 100 e 300mg/L), a loperamida (mg/kg) e o veículo. Decorridos 60 minutos da administração, foi realizada a administração do óleo de rícino (0,3 mL/animal) e após mais 60 minutos, a suspensão Agar-carvão ativado. Os animais foram eutanasiados 40 minutos após a administração da suspensão Agar-carvão ativado, sendo individualmente submetidos a abertura abdominal e dissecação do trato gastrointestinal para verificação da distância percorrida pela suspensão marcadora. Foram medidos o comprimento total do intestino delgado e o comprimento da distância percorrida pela suspensão de Agar-carvão ativado e os resultados foram expressos em porcentagem da distância percorrida pela suspensão em função do comprimento total do intestino delgado, calculado pela fórmula abaixo (WONG; WAI, 1981).

$$\% \text{ de transito intestinal} = \frac{\text{distância percorrida pelo carvão}}{\text{comprimento total do intestino delgado}} \times 100$$

3.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO METANÓLICO DAS CASCAS DE *P. caimito* E DAS FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO E ACETATO DE ETILA

O ensaio da atividade antimicrobiana foi realizado no Laboratório de Controle de Qualidade, Bromatologia e Microbiologia da Universidade Federal do Amapá.

3.6.1 Microrganismos

Todas as cepas foram obtidas do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) /Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) conforme relação no Quadro 4. Os microorganismos utilizados no estudo foram mantidos no Laboratório de Controle de Qualidade, Bromatologia e Microbiologia da Universidade Federal do Amapá, em ágar nutriente à temperatura ambiente.

Quadro 4. Relação das cepas bacterianas usadas, sua origem e histórico.

No.	Microorganismos	Fornecedor	História
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	FIOCRUZ	ATCC 6538
2	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	FIOCRUZ	ATCC 12228
3	<i>Escherichia coli</i>	FIOCRUZ	ATCC 8789
4	<i>Klebsiella pseudomona</i>	FIOCRUZ	ATCC 4382
5	<i>Enterococcus faecalis</i>	FIOCRUZ	ATCC 9083
6	<i>Salmonella typhi</i>	FIOCRUZ	ATCC 259

ATCC = American Type Culture Collection (EUA)

3.6.2 Meios de Cultura

Os meios de cultura utilizados nos ensaios microbiológicos foram Agar Müller-Hinton (Merck®) para bactérias, os quais foram preparados e usados conforme as instruções dos fabricantes.

3.6.3 Inoculo Bacteriano

O inoculo das cepas bacterianas utilizadas nos ensaios microbiológicos foi obtido a partir de culturas de repiques de 24 horas a 35°C e as suspensões foram preparadas em tubos de ensaios (16 x 16 mm), contendo 10 mL de solução salina (NaCl a 0,9%) esterilizadas. Em seguida, estas suspensões foram agitadas durante dois minutos com o auxílio de aparelho Vortex. Após agitação, cada suspensão teve turbidez comparada e ajustada à turbidez apresentada pela solução de sulfato de bário 0,5 da escala de McFarland, a qual corresponde a um inoculo de 10⁸ UFC/mL (CLEELAND; SQUIRES, 1991; HADACEK; GREGER, 2000; NCCLS, 2004). As suspensões bacterianas foram diluídas 1:9 v/v em solução salina, para obtenção de um inoculo final contendo, aproximadamente, 10³ UFC/mL, como descrito pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012)

3.6.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Os ensaios CIM e CBM foram realizados utilizando o método de microdiluição em caldo, no caldo Mueller-Hinton, conforme descrito pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012).

Em cada um dos 96 poços da placa foram adicionados 100 µL do caldo nutriente e, em seguida, 100 µL do produto natural (extrato bruto, fração hexano, fração clorofórmio e fração acetado de etila), cuja concentração inicial era de 5 mg/mL. Uma diluição seriada à razão de 2 foi realizada (5mg/mL a 0,16mg/mL) para extrato e frações. Após as diluições, foram inoculadas em todos os poços da placa 100 µL das suspensões com os inóculos. Os ensaios foram incubados a 35°C por 24 horas e o clorafenicol (50 µg/mL) foi utilizado como controle positivo. Também foram realizados o controle do meio de cultura e o controle negativo (solvente).

Com a finalidade de se determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos produtos frente às espécies bacterianas testadas, foi preparada e usada uma solução indicadora de resazurina sódica em água destilada esterilizada na concentração de 0,01% (p/v). Foram dispensados 20 µL dessa solução indicadora em cada poço, para então ser incubada por um período de três horas em estufa a 35°C. Em seguida foi realizada a leitura do resultado, sendo observada a mudança da coloração azul para rosa, indicando a redução da resazurina mediante crescimento das cepas bacterianas. A interpretação do resultado foi visualizada com maior segurança em relação à CIM, definida como menor concentração do produto natural capaz de inibir o crescimento bacteriano, evidenciado pela cor azul do indicador utilizado (MANN; MARKHAM, 1998).

Para determinar a CBM (Concentração Bactericida Mínima), foram retirados 10 µL de caldo de cada poço que apresentou inibição bacteriana e incubados em ágar Mueller-Hinton a 37 ° C durante 24h. A CBM foi definido como a menor concentração de extratos ou frações que resultaram em nenhum crescimento ou menos de três colônias (99,9% de morte) como descrito por Quadros et. al. (2011). O controle negativo consistiu em 100 µL do inóculo bacteriano em 100 µL de Tween80® e o cloranfenicol (50 µg/mL) foi utilizado como controle positivo para as bactérias.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados referentes aos experimentos farmacológicos foram expressos como $\text{media} \pm \text{erro padrão da média (e.p.m.)}$ e as análises estatísticas foram realizadas através da análise de variância de uma via (ANOVA) seguida do teste de Tukey. Os dados foram analisados utilizando-se o software GraphPad Prism, versão 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, U.S.A.). O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$

3.8 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O projeto (protocolo nº 0017/2016) foi submetido ao Comitê de Ética no uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), tendo recebido a devida apreciação e obtenção de autorização para o seu desenvolvimento.

4.1 RENDIMENTOS DOS EXTRATOS E FRAÇÕES

Para a obtenção do extrato metanólico de *P. caimito* (EMPC) foram utilizadas as cascas do fruto (736g). As soluções extrativas obtidas foram concentradas em evaporador rotativo a uma temperatura de 40°C, obtendo-se o extrato metanólico da casca do fruto *P. caimito* (EMPC) e as frações hexano (FH), clorofórmio (FC) e acetato de etila (FA), cujos rendimentos foram: EMPC = 9%, FH = 3,58%, FC = 1,74% e FA = 0,8%.

4.2 ATIVIDADE ANTIDIARREICA DO EXTRATO METANÓLICO DAS CASCAS DE *P. caimito* (EMPC)

4.2.1 Avaliação do EMPC sobre a modulação da defecação normal em camundongos

Em relação ao efeito de EMPC sobre a modulação da defecação normal em camundongos, evidenciou-se que, 4h após os tratamentos, as doses crescentes do extrato (30mg/kg, 100mg/kg, 300mg/kg), induziram médias de evacuações de $0,35 \pm 0,18$, $2,7 \pm 0,67$ e $0,4 \pm 0,08$, respectivamente. Tais efeitos mostraram-se diferentes com relação aos observados no grupo controle negativo (veículo) e no grupo controle positivo (loperamida 5mg/kg), ambos com média de evacuações de $0,1 \pm 0,07$ (Tabela 2).

Tabela 2. Média de evacuações, ao longo de 4h, dos grupos tratados com EMPC nas doses de 30, 100 e 300mg/kg e dos grupos controles.

Tratamento	1ª hora	2ª hora	3ª hora	4ª hora	Média ± e.p.m das 4h
Loperamida	0,4 ± 0,24	0	0	0	0,1 ± 0,07
Veículo	0	0,4 ± 0,24	0	0	0,1 ± 0,07
EMPC 30mg/kg	1,4 ± 0,5	0	0	0	0,35 ± 0,18
EMPC 100mg/kg	4,6 ± 1,54	4,6 ± 1,43	1 ± 0,55	0,6 ± 0,6	2,7 ± 0,67*
EMPC 300mg/kg	1,2 ± 0,58	0,4 ± 0,25	0	0	0,4 ± 0,08

*p <0,05 vs loperamida, veículo, EMPC 30mg/kg e 300mg/kg

O número de evacuações ao longo das 4h após o tratamento com EMPC na dose de 100mg/kg foi significativamente maior quando comparado as demais doses (300mg/kg e 30mg/kg) e ao veículo, sugerindo que o extrato modula positivamente a defecação normal em camundongos e que tal modulação ocorre de maneira independente da dose. Em todos os grupos, exceto no grupo que recebeu extrato na dose de 100mg/kg, observa-se que os valores de evacuações chegam a zero ao final das 4h. Conforme descrito em literatura (HUGHES, 1995), a loperamida (controle positivo) administrada oralmente alcança o pico de concentração plasmática em cerca de 3h, momento que seu efeito é máximo, o que corrobora com os resultados obtidos. Tais dados podem ser observados na Tabela 2.

4.2.2 Avaliação dos efeitos do EMPC sobre a diarreia induzida por óleo de rícino

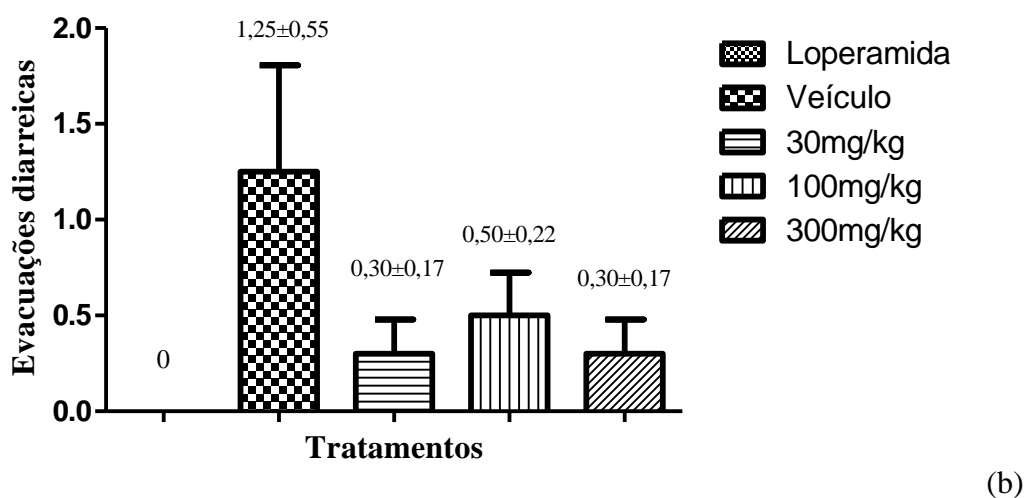
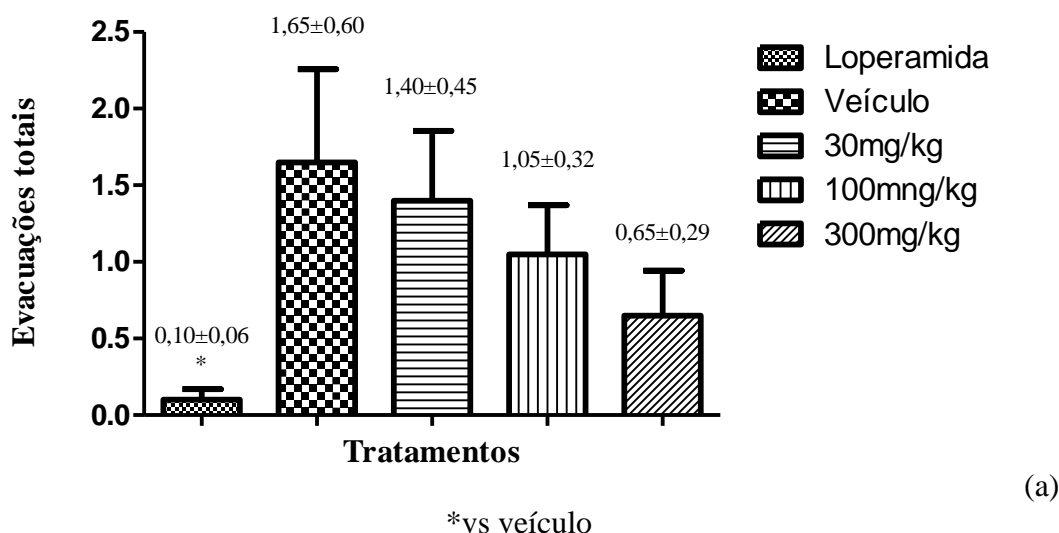
Com relação ao experimento da diarreia induzida por óleo de rícino, a média de evacuações totais do extrato nas doses de 30, 100 e 300mg/kg foi de 1,4 ± 0,45, 1,05 ± 0,32 e 0,65 ± 0,29, respectivamente. Quando comparados ao resultado observado no grupo veículo, que apresentou média de evacuações 1,65 ± 0,60, todos os grupos apresentaram número de evacuações menores. Foi observado também que o número de evacuações foi inversamente proporcional a concentração da dose, ou seja, quanto maior a dose, menor o número de evacuações totais. Tais resultados podem ser observados no Gráfico 1a.

Analisando-se os resultados obtidos com relação as evacuações diarreicas, os grupos doses de 30 e 300mg/kg apresentaram média de diarreia de 0,30 ± 0,17. O grupo dose de 100mg/kg apresentou média de diarreia discretamente maior do que as demais doses (0,5 ± 0,22). Todos os grupos doses, quando comparados ao grupo veículo, com média de diarreia 1,25 ± 0,55, apresentaram média de evacuações diarreicas menores (Gráfico 1b).

Ao analisar o efeito da droga antidiarreica (loperamida), pode-se observar que houve ação sobre o trânsito intestinal, corroborando com resultados já encontrados na literatura (TANGPU, 2004).

O extrato nas três doses testadas não apresenta ação sobre a motilidade intestinal quando comparado ao grupo que recebeu apenas o veículo.

Gráfico 1. Efeito de diferentes doses do EMPC (30, 100 e 300mg/kg), veículo e loperamida sobre a diarreia induzida com óleo de rícino. Em (A) evacuações totais e (B) evacuações diarreicas.



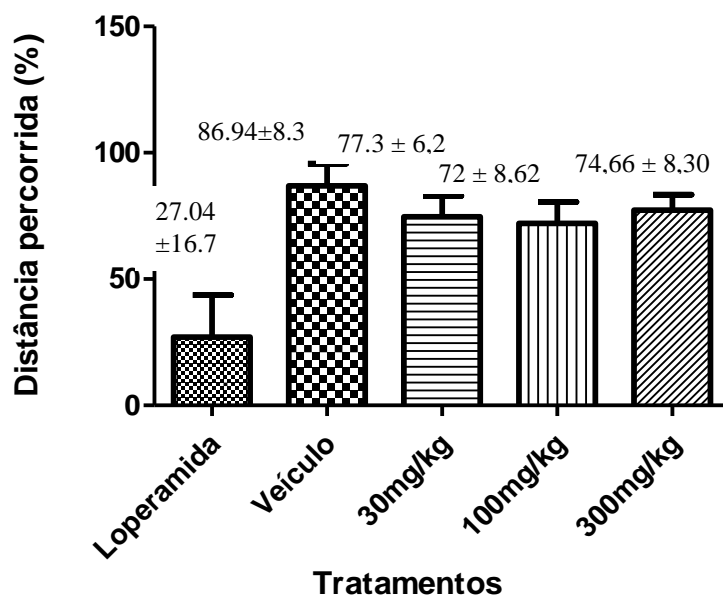
4.2.3 Efeito do EMPC sobre o trânsito intestinal estimulado em camundongos

No modelo experimental de trânsito intestinal estimulado, o resultado da administração via oral do extrato nas doses testadas (30, 100 e 300mg/kg) não mostrou redução significativa da distância percorrida pela suspensão marcadora quando comparado ao resultado do grupo que recebeu apenas o veículo, sugerindo que o extrato não interferiu no trânsito intestinal (Gráfico 2). Dentre as

concentrações testadas, a que apresentou menor trânsito do marcador, o ágar carvão ativado, através do trato gastrointestinal dos camundongos, foi a dose de 100mg/kg ($72\% \pm 8,62$), seguida pela dose de 30mg/kg ($74,66\% \pm 8,30$) e 300mg/kg ($77,30\% \pm 6,2$).

Ao compararmos o grupo que recebeu a droga padrão (loperamida) com o grupo que recebeu apenas o veículo, percebeu-se uma diferença significativa ($p= 0,01$) na diminuição do trânsito intestinal estimulado, ratificando sua ação na motilidade intestinal já evidenciada na literatura (TANGPU, 2004).

Gráfico 2. Efeito do EMPC (30mg/kg, 100mg/kg e 300m/kg, n=5), veículo e loperamida (5mg/kg) sobre o transito intestinal estimulado.



4.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO METANÓLICO DE *P. caimito* E DAS FRAÇÕES HEXANO, CLOROFÓRMIO E ACETATO DE ETILA

O extrato bruto e as frações hexano, clorofórmio e acetato de etila do fruto *P. caimito* foram avaliadas quanto a capacidade de inibir o crescimento *in vitro* de cepas de bactérias patogênicas. Nesse estudo preliminar da atividade antimicrobiana, foram escolhidas 3 cepas Gram positivas (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Enterococcus faecalis*) e 3 cepas Gram negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Salmonella tiphy*).

No que diz respeito a atividade antimicrobiana, observa-se na Tabela 3 que o extrato bruto foi mais efetivo frente as cepas de *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli*, com CIM de 0,6 mg/mL para ambas as cepas. O extrato bruto também apresentou valores relevantes de CIM para as cepas de *Staphylococcus aureus* (1,2mg/mL) e *Klebsiella pneumoniae* (1,2mg/mL). Com relação as frações (hexano, clorofórmio e acetato de etila), a fração acetato de etila apresentou melhores resultados, com CIM de 2,5 mg/mL para a *S. aureus* e 1,2mg/mL para *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. A fração hexano e clorofórmio apresentaram CIM acima de 5mg/mL para as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Não houve atividade antimicrobiana frente as cepas de *Enterococcus faecalis* e *Salmonella tiphy*.

Tabela 3. Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) para o extrato de *P. caimito* e frações hexânica, clorofórmica e acetato de etila.

BACTÉRIAS	EB		FH		FA		FC	
	CI M	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,2	>5	>5	>5	2,5	>5	>5	>5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,6	5	5	>5	1,2	2,5	5	5
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	0,6	>5	>5	>5	1,2	2,5	>5	>5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,2	>5	>5	>5	1,2	1,2	5	>5
<i>Salmonella tiphy</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

EB= extrato bruto; FH = fração hexano; FA = fração acetato; FC = fração clorofórmio

Estudos previamente realizados, demonstraram que diversas espécies do gênero *Pouteria* apresentaram ação contra as cepas bacterianas testadas. *Pouteria venosa* apresentou ação contra *S. aureus* e *S. epidermidis* (SANTOS, et.al., 2015), *Pouteria torta* contra *S. aureus* (LOPEZ, et.al., 2005; ALVES, 2000) e *E. coli* (ALVES, 2000), *Pouteria pallida* e *Pouteria. gardnerii* apresentaram ação contra o *S. aureus* (HUMASON, 2005; SILVA, 2001). *Pouteria ramiflora*, *Pouteria glomerata*,

Pouteria psamophila e *Pouteria grandiflora* foram ativas contra *E. coli* (AGRIPINO, 2004). No que tange à avaliação da atividade antimicrobiana contra as cepas de *Klebsiella pneumoniae*, estudo realizado anteriormente mostrou ação inibitória do crescimento com uso do extrato das folhas de *P. caimito* (EVANGELISTA, 2017) e no presente estudo, os melhores resultados foram evidenciados com o uso do extrato bruto e fração acetato de etila. De acordo com FABRY, et.al. (1998), para que um extrato seja considerado como potencialmente útil na terapêutica o valor do CIM deve ser inferior a 8 mg/mL.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No modelo experimental da modulação da defecação normal, observou-se que o extrato na dose de 100mg/kg modula positivamente a defecação normal, sugerindo ação laxante.

Nos experimentos de diarreia induzida por óleo de rícino e trânsito intestinal estimulado, os resultados obtidos mostram que o extrato metanólico de *P. caimito* (EMPC) nas doses testadas não apresentou influência, estatisticamente significativa, na diminuição da motilidade gastrointestinal.

Com relação a atividade antimicrobiana, o extrato apresentou boa atividade contra a maioria das cepas de bactérias avaliadas, tanto Gram positivas, quanto Gram negativas, porém não apresentou atividade frente as cepas de *Enterococcus faecalis* e *Salmonella tiphy*.

ADOLFO, I.; VIGILÂNCIA, C. DE; ALEXANDRE, E. Diarreia e rotavírus. *Revista de Saude Publica*, v. 38, n. 6, p. 844–845, 2004. ALAM, N.H.; ASHRAF, H. Treatment of infectious diarrhea in children. ***Pediatric Drugs***. v.5, n.3, p.151-65, 2003.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 14 de 31 de março de 2010. Diário Oficial da União, Brasília, DF, de 05 de abril de 2010. Disponível em: <<https://www.diariodasleis.com.br/busca/exibelink.php?numlink=213878>> Acesso em 27 de jan. 2018.

AGRIPINO, D. G.; LIMA, M. E. L.; SILVA, M. R.; MEDA, C. I.; BOLZANI, V. S.; CORDEIRO, I.; YOUNG, M. C. M.; MORENO, P. R. H. Screening of Brazilian Plants for Antimicrobial and DNA damaging activities. ***Biota Neotropical***, v. 4, p. 1-15, 2004.

ALMEIDA, C. E.; KARNIKOWSKI, M. G. O.; FOLETO, R.; BALDISSEROTTO, B. Analysis of the antidiarrhoeic effect of plants used in popular medicine. ***Revista de Saúde Pública***, v. 29, p. 428-433, 1995.

ALVES, T. M. A.; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T S.; SMANIA, E. F. A.; JUNIOR, A. S.; ZANI, C. L. Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants. ***Memórias do Instituto Oswaldo Cruz***, Rio de Janeiro, v. 95(3), p. 367-373, 2000.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS (AAP). Practice parameters: the management of acute gastroenteritis in young children provisional committee on quality improvement subcommittee on acute gastroenteritis. ***Pediatrics***, v.97, p.424–35, 1996.

ARAÚJO, A. A. ***Taxonomia e Filogenia de Pouteria Aubl. (Sapotaceae) na Mata setentrional***. 2012. 282f. Tese (Doutorado) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2012.

ARAÚJO FILHO, H. B.; CARMO-RODRIGUES, M. S.; MELLO, C. S.; MELLI, L. C. F. L.; TAHAN, S.; MORAIS, M. B. Parasitoses intestinais se associam a menores índices de peso e estatura em escolares de baixo estrato socioeconômico. ***Revista Paulista de Pediatria***, v. 29, n. 4, p. 521–528, 2011.

ARDON, A.; NAKANO, T. Triterpenes from the bark of *Pouteria caimito*. ***Planta Médica***, v. 23 (4), p. 348-352, 1973.

ASTOLFI FILHO, S.; SILVA, C. G. N.; BIGI, M. F. M. Bioprospecção e biotecnologia Se um dos maiores atributos da vida na terra é a diversidade, a Amazônia pode ser considerada. ***Revistas Parceiras Estratégicas***. v. 19, n. 2011, p. 45–80, 2014.

BALBACH, A. ***As frutas na medicina doméstica***. 4ª edição. São Paulo: M.V.P., 1975. 470p. BAJAJ, P.; SINGH, N. S.; VIRDI, J. S. Escherichia coli β -Lactamases: What Really Matters. ***Frontiers in Microbiology***, v. 7, n. March, p. 1–14, 2016.

BARBUTI, R. C. Diarreias agudas. Aspectos clínicos, etiológicos e terapêuticos. **Revista Brasileira de Medicina**. v.34(1), p.3 a 12, fev. 2008.

BARREIROS, A. L. B. S.; BARREIROS, M. L. Atividade antioxidante das frutas amazônicas abiu (*Pouteria caimito*), biribá (*Rollinia mucosa*) e cubiu (*Solanum sessiliflorum*) pelo método do seqüestro do DPPH. In: 34ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2011, Florianópolis- SC. Laboratório de Produtos Naturais – Departamento de Química – Universidade Federal de Sergipe, 2011.

BENETTI, G. B.; BRANCO, L. M.; COMENALE, N. Microbiologia aplicada à Nutrição e à Alimentação. In BENETTI, G. B. **Curso Didático de Nutrição**. São Caetano do Sul, São Paulo: Yendis, 2013, p.164-177.

BINDER, H. J.; BROWN, I.; RAMAKRISHNA, B.S.; YOUNG, G.P. Oral rehydration therapy in the second decade of the twenty-first century. **Current Gastroenterology Reports**. v.16, p. 376, 2014.

BIBI, Y.; NISA, S.; CHAUDHARY, F. M.; ZIA, M. Antibacterial activity of some selected medicinal plants of Pakistan. BMC Complement. **Alternative Medicine Review**. v. 11, p. 52-58, 2011.

BIZANI, D.; BRANDELLI, A. Antimicrobial susceptibility, hemolysis and hemagglutination among *Aeromonas spp.* isolated from water of a bovine abattoir. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.32, p.334-339, 2001.

BRASIL. Portal da qualidade das águas: indicadores de qualidade - índice de qualidade das águas. Disponível em <http://portalpnqa.ana.gov.br/indicadores-indice-aguas.aspx#_ftn2> Acesso em 21 de abr. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política nacional de práticas integrativas e complementares no SUS: atitude de ampliação de acesso / Ministério da Saúde**. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. – 2. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de Salmonella spp.: diagnóstico laboratorial do gênero Salmonella / Ministério da Saúde**. Secretaria de Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. – Brasília: Ministério da Saúde, 2011. 60 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso / Ministério da Saúde**, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 8. ed. rev. – Brasília: Ministério da Saúde, 2010. 444 p.

BRASIL. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso. Cadernos de Saúde Pública, v. 22, n. 11, p. 2498–2498, 2010.

BRASIL - Ministério da Saúde. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRISKIN, D. P. Medicinal Plants and Phytomedicines. Linking Plant Biochemistry and Physiology to Human Health. **Plant Physiology**, v. 124, p. 507 – 514, 2000.

- BRUYN, G. Diarrhea in Adults (Acute). **American Family Physician**. v.78(4), p 503-4. 2008.
- BURT, S. Essencial oils: their antibacterial properties and potencial applications in food – a Review. **International Journal of Food Microbiology**, v.24, p.223-253, 2004.
- CASSETTARI, V.C.; SILVEIRA, I. S.; BALSAMO, A. C.; FRANCO, F. Surto em berçário por *Klebsiella pneumoniae* produtora de beta-lactamase de espectro estendido atribuído à colonização de profissional de saúde portador de onicomiose. **Jornal de Pediatria**, v. 82 (4) p. 313-316, 2018.
- CACERES, A.; CANO, O.; SAMAYOA, B.; AGUILAR, L. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 30, p. 55-73, 1990.
- CARVALHO, J. E. U. de. **Abieiro - Série frutas nativas 2010**. 1ª ed. São Paulo: Funep, 2010.
- CARVALHO, V. M. Colibacilose e salmoneloses. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Roca, 2006. P.742-750.
- CASTRO, C. F. S.; SILVA, C. A. M.; PERFEITO, J. P.; SANTOS, M. L.; RESCK, I. S.; PAULA, J. E.; SILVEIRA, D., Avaliação da atividade antioxidante de algumas espécies de Pouteria. In: 29ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, n. 5, 19 a 22 de mai. 2006, Águas de Lindóia. **Anais...Águas de Lindóia: SBQ**, 2006, p. 3-5.
- CASTRO, H. G., CASALI, V. W. D., BARBOSA, L. C. A., & CECON, P. R. Rendimento de tanino em dois acessos de carqueja (*Baccharis myriocephala* DC), em diferentes épocas de colheita em Viçosa-MG. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.1, p.29-33, 1999.
- CAVALCANTE, R. B. . Ocorência de *Escherichia coli* em fontes de água e pontos de consumo em uma comunidade rural. **Revista Ambiente e Agua**, v. 9, n. 3, p. 445–458, mar. 2014.
- CAUWERTS K.; DECOSTERE A.; DE GRAEF E.M.; HAESEBROUCK F.; PASMANS F. High prevalence of tetracycline resistance in *Enterococcus* isolates from broilers carrying the erm(B) gene. **Avian Pathology**, v.36, p. 395-399, 2007.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Agência do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos, sediada no Condado de DeKalb, Geórgia. Trabalha na proteção da saúde pública e da segurança da população, provendo informações para embasar decisões quanto à saúde. *E.coli* (*Escherichia coli*). Disponível em <<http://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html>> Acesso em 21 de abr.2016.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Agência do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos, sediada no Condado de DeKalb, Geórgia. Trabalha na proteção da saúde pública e da segurança da população, provendo informações para embasar decisões quanto à saúde. *Yersinia*. Disponível em <<http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/yersinia/>> Acesso em 22 de abr.2016.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Agência do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos, sediada no Condado de DeKalb, Geórgia. Trabalha na proteção da saúde pública e da segurança da população, provendo informações para embasar decisões quanto à saúde. Rotavirus. Disponível em < <http://www.cdc.gov/rotavirus/>> Acesso em 22 de abr.2016.

- CHAN, J.; GANDHI, R. T. A case of septic arthritis of the shoulder due to *Yersinia enterocolitica* with review of the literature. **Open Forum Infectious Diseases**. v. 1, n. 2, sep. 2014.
- CHAMBERS, H. F. Antimicrobianos: Considerações gerais. In: GOODMAN e GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. Tradução de Carla Mello Vorsatz, 10ªed. Rio de Janeiro: MacGraw-Hill, 2005.
- CHENG, A.C.; McDONALD, J. R.; THIELMAN, N.M. Infectious Diarrhea in Developed and Developing Countries. **Journal of Clinical Gastroenterology**. v.39 (9), 2005.
- CLSI. (2012). **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard–Ninth Edition**. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) document M07-A9 [ISBN 1-56238-783-9] USA.
- CLEELAND, R., SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials in vitro and in experimental animal infections. In: LORIAN, V. M. D., ed. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. Baltimore: Williams & Wilkins, p. 739-789, 1991.
- CONDESSA, M. B. **Avaliação da atividade antioxidante e alelopática de plantas medicinais**. 22 de mar. 2012. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, Brasília, 2011.
- COSTA, A.V. da C.; CALÁBRIA, L. K.; FURTADO, B. F.; GOUVEIA, N. M. de; OLIVEIRA, R. J. da S.; OLIVEIRA, V. N. de; BELETTI, M. E.; ESPINDOLDA, F. S. Neuroprotective effects of *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk (Sapotaceae) extract on the brains of rats with streptozotocin-induced diabetes. **Metabolic brain disease**, v. 28(3), p. 411-419, 2013.
- COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.
- DAS, K. A; ROHINI, R. M; HEMA, A. Antidiarrhea activity of *Rhizophoram mucronata* bark extracts. **The Internet Journal of Alternative Medicine**. v.7 (1), 2008.
- DE CAMPOS, A. N. F. B.; SOUZA, N. R.; DA SILVA, P. H. C.; SANTANA, A. P. Resistência antimicrobiana em *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* isolados de carcaças de frango. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33(5), p.575-580, 2013.
- DECHER, N.; KRENITSKY, J. S.; Tratamento nutricional nos distúrbios do trato gastrointestinal inferior. In: MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S.; RAYMOND, J.L. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. p.610-644.
- DIANCOURT, L.; PASSET, V.; VERHOEF, J.; GRIMONT, P. A.; BRISSE, S. Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates. **Journal of clinical microbiology**, v. 43(8), p. 4178-4182, 2005.
- DINI, I. Flavonoid glycosides from *Pouteria obovata* (R. Br.) fruit flour. **Food chemistry**, v. 124, n. 3, p. 884-888, 2011.
- DOS SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; DE FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de

- importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.43(6), p.413-423, 2007.
- DUGGAN, C.; FONTAINE, O.; PIERCE, N. F.; GLASS, R. I.; MAHALANABIS, D.; ALAM, N. H.; BHAN, M. K.; SANTOSHAM, M. Scientific rationale for a change in the composition of oral rehydration solution. **Journal of the American Medical Association**. v. 291, p. 2628 – 31, 2004.
- ESCOBAR, A. M. U.; ROCHA, S. S.; SZTAJNBOK, S.; EISENCRAFT, A. P.; GRISI, S. J. F. E. Sepsis por *Klebsiella pneumoniae* - Revisão de 28 casos. **Journal of Pediatrics**, v.72(4), p.230-234, 1996.
- ESPIRITO SANTO, B. L. S. do. **Laranjinha de pacu (*Pouteria glomerata* (miq.) radlk): caracterização do fruto e potencial para modelo in vivo**. 2017. Dissertação de Mestrado (Mestre em Ciências da Saúde), Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande.
- EVANGELISTA, A.C.S. ***Pouteria caimito* (Ruiz & Pav.) Radlk: um novo potencial terapêutico?** 2017.72f. Dissertação (Trabalho de Conclusão de Curso) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais.
- EZEJA, M. I.; ANAGA, A. O. Antidiarrheal activities of *Cochlospermum planchonii* (Hook f). **International Journal of Pharmacology and Toxicology**, v.2(2), p. 40-44, 2010.
- FABRI, R. L.; DA COSTA, J. A. B. M. Perfil farmacognóstico e avaliação das atividades citotóxica e antibacteriana de *Bromelia antiacantha* Bertol. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 9, n. 2, p. 12, 2012.
- FABRIS, L. C.; PEIXOTO, A. L. *Sapotaceae* das Restingas do Espírito Santo, Brasil. **Rodriguesia**, v. 64, n. 2, p. 263–283, 2013.
- FABRY, W.; OKEMO, P. O.; ANSORG, R. Antibacterial activity of East African medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 60, p. 79-84, 1998.
- FAO/WHO. Joint FAO/WHO. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Ontário/Canadá, abr/mai, 2002.
- FINKELSTEIN, R. A. Cholera, *Vibrio cholerae* O1 and O139, and Other Pathogenic Vibrios. In: BARON, S. Editora: Medical Microbiology. 4ª ed. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996. Cap. 24. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8407/> Acesso em 22 de abr. 2016.
- FONTES-JUNIOR, E. A. 2004. *Investigação das possíveis atividades antinociceptiva e antiinflamatória do extrato etanólico de Pouteria ramiflora*. Belém 110 p. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Pará.
- FREIRE, R. B.; FREIRE, M. F. L.; BERBARA, R. L. Elisa de captura com IgY para quantificação de acetato de lupeol em *Vernonia scorpioides* Lam. Pers (asteraceae). **Ciência Rural**, v. 34, p. 1069-1074, 2004.

- FUENTEALBA, C.; GÁLVEZ, L.; COBOS, A.; OLAETA, J. A.; DEFILIPPI, B. G.; CHIRINOS, R.; PEDRESCHI, R. Characterization of main primary and secondary metabolites and in vitro antioxidant and antihyperglycemic properties in the mesocarp of three biotypes of *Pouteria lucuma*. **Food chemistry**, v. 190, p. 403-411, 2016.
- GAGINELLA, T. S.; BASS, P. Laxative: um update on mechanism of action. **Life Science**, v.23, p. 1001-1010, 1978.
- GAMA B.A. 2008. **Análise da resistência antimicrobiana e de genes de virulência de *Enterococcus spp.*** Dissertação de Mestrado em Ciências, Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 73p.
- GANGAROSA, R. E.; GLASS, R.I.; LEW J. F.; BORING, J. R. Hospitalizations involving gastroenteritis in the United States, 1985: the special burden of the disease among the elderly. **American Journal of Epidemiology**. v.135, p. 281-90, 1992.
- GALVEZ, J., ZARZUELO, A., CRESPO, M.E., Antidiarrhoeic activity of *Euphorbia hirta* extract and isolation of an active flavonoid. **Planta Medica**, v.59, p.333–336, 1993.
- GALVEZ, J.; DUARTE, J.; DEMEDINA, F. S.; JIMENEZ, J.; ZARZUELO, A. Inhibitory effects of quercetin on guinea-pig ileum contractions. **Phyto. Res.**, v. 10, n. 1, p.66-69, 1996
- GARDENAL, I. Estudo mapeia ação de bactéria. *Jornal da Unicamp*, Campinas, n. 532, set. 2012. Disponível em <<http://www.unicamp.br/unicamp/ju/539/estudo-mapeia-acao-de-bacteria>> Acesso em 22 de abr. 2016.
- GOMES, TA; RASSI, V.; MAC DONALD, K. L.; RAMOS, S. R.; TRABULSI, L. R.; VIEIRA, M. A.; GUTH, B.E.; CANDEIAS, J.A.; IVEY, C.; TOLEDO, M.R.; et.al. Enteropathogens associated with acute diarrheal disease in urban infants in São Paulo. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**. v.148, p.986-97.1993.
- GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: Aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C.M.O.; GUERRA, M. P. et al “**Farmacognosia: da planta ao medicamento**”. 5ªed. Porto Alegre/ Florianópolis: Editora da UFRGS/UFSC p.14-20, 2004.
- GUERRANT, R.; HUGHES, J.M.; LIMA, N.L; CRANE, J. Diarrhea in Developed and Developing Countries: Magnitude, Special Settings, and Etiologies. **Clinical Infectious Diseases**.v.12, p.41-50, jan.1990.
- GUPTA, M. B.; BAHLLA, T. N.; GUPTA G. P. Anti-inflammatory activity of natural products. Triterpenoids. **European Journal of Pharmacology**, v. 6, p. 67-70, 1969.
- GREGORY, L.; ROSSI, R.S.; MENDES, J.P.G.; NEUWIRT, N.; MARQUES, E.C.; MELVILLE, P.A.; MONTEIRO, B.M. Ocorrência dos principais agentes bacterianos e parasitários em fezes diarreicas de bezerros búfalos nos estados de São Paulo e Paraná. **Arquivos do Instituto Biológico**. v. 81, n. 2, p. 180–185, 2014.
- HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice, **Phytochemical Analysis**, v.11, p.137–147, 2000.
- HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G.R.; MERENSTEIN, D.J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R. B.; FLINT, H. J.; SALMINEN, S.; CALDER, P. C.; SANDERS, M. E. The

International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**. v.11, p. 506-14, 2014.

HINRICHSEN, S.L.; GODOI, E.T.; GODOI, J.T.; SILVA, V.T.C.; KOVACS, F.T.; COUTINHO, C.P. O que se deve saber... Diarreias infecciosas. **Revista Brasileira de Medicina**. v. 58(5), 2001.

HUGHES, I. W. First-line treatment in acute non-dysenteric diarrhoea: clinical comparison of loperamide oxide, loperamide and placebo. **British Journal of Clinical Practice**., v. 49(4), p. 181-185, 1995.

HUMASON, A. W. **A search for multi-drug resistance pump inhibitor molecules by isolation of natural products**. 2004. Dissertation (Master of Science With a Major in Chemistry), Faculty of Dedman College Southern Methodist University, Dallas, Texas.

IGBINOSA I. H; IGUMBOR E. U; AGHDASI F.; TOM M.; OKOH A. I. Emerging *Aeromonas* species infections and their significance in public health. **Scientific World Journal**. v.2012,13p., mar.2012.

IRCHHAIYA, R.; KUMAR, A.; YADAV, A.; GUPTA, N.; KUMAR, S.; GUPTA, N.; KUMAR, S.; YADAVA, V.; PRAKASH, A.; GURJAR, H. Metabolites in plants and its classification. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 1, p. 287–305, 2015.

IZZO, A. A.; NICOLETTI, M.; GIANNATTASIO, B.; CAPASSO, F. Antidiarrhoeal activity of Terminalia sericea Burch ex. DC extracts. In: CAPASSO, F.; MASCOLO, N. (Eds). **Natural drugs and the digestive tract**. Roma: EMSI, 1992, p. 223-230.

JANDA, J. M.; ABBOTT, S. L. The Genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v.23, n.1, p.35-73, 2010.

KENT, A. J.; BANKS, M. R. Pharmacological management of diarrhea. **Gastroenterology Clinics of North America**, v. 39, p. 495–507, 2010.

KENSE M.J.; LANDMAN, W.J.M. Enterococcus cecorum infections in broiler breeders and their offspring: molecular epidemiology. **Avian Pathology**, v.40(6), p.603-612, 2011.

KIM, H. P.; SON, K. O.; CHANG, H. W.; KANG, S. S. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. **Journal of pharmacological sciences**, v. 96, n. 3, p. 229-245, 2004.
KLIEBENSTEIN, D. J. Making new molecules – evolution of structures for novel metabolites in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 16, 112–117, 2013.

KOSEK, M.; BERN, C.; GUERRANT, R. L. The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 81, n. 3, p. 197–204, 2003.

LETCHUMANAN, V.; CHAN, K. G.; LEE, L. H. *Vibrio parahaemolyticus*: A review on the pathogenesis, prevalence, and advance molecular identification techniques. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, p. 1–13, dez. 2014.

LEUNG, W. W.; FLORES, M. **Food composition table for use in Latin America**. Washington: INCAP-ICNND, 1961. 158 p.

- LIU, L.; JOHNSON, H. L.; COUSENS, S.; PERIN, J.; SCOTT, S.; LAWN, J. E.; RUDAN, I.; CAMPBELL, H.; CIBULSKIS, R.; LI, M.; MATHERS, C.; BLACK, R. E. Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000. **The Lancet**, v. 379, p. 2151–2161, 2012.
- LOPEZ, K. S. E. Estudo químico e atividade biológica de *Pouteria torta* (Mart.) Raldk (Sapotacea). 2005. 197f. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília.
- MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; ZOGHBI, M. G. B. Volatiles from fruits of *Pouteria pariry* (Ducke) Baheni and *Pouteria caimito* (Ruiz and Pavon) Rdlkl. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v.6, p.127-129, 2003.
- MANICA, I. **Frutas Nativas, Silvestres e Exóticas 1 Técnicas de produção e mercado**. 1ª edição, Editora Cinco Continentes, Porto Alegre-RS,2000, 13 p.
- MANN, C. M. and MARKHAM, J. L. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. **Journal of Applied Microbiology**, v.84, p.538–544, 1998.
- MARTEL, J. H. I. 1992. Frutíferas da Amazônia. *In*: Donadio, L.C.; Martins, A.B.G.; Valente, J.P (Eds). **Fruticultura Tropical**. Jaboticabal: Funep. 268pp.
- MELO, L., THOMAS, G., MUKHERJEE, R., Antidiarrheal activity of bisnordihydroxytoxiferine isolated from the root bark of *Strychnos trinervis* (Vell) Mart (Loganiaceae). **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.40, p.79–82, 1988.
- MICHELIN, D.C.; MORESCHI, P. E; LIMA, A. C.; NASCIMENTO, G. G. F.; PAGANELLI, M. O.; CHAUD, M. V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 15, n. 4, p. 316-320, 2005.
- MINK, M. Modes of action of herbal medicine and plant secondary metabolites. **Medicines**, v. 2, p. 251–286, 2011.
- MITTAL, S. K.; MATHEW, J. L. Regulating the use of drugs in diarrhea. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v.33, p.S26-S30, 2001.
- MONTENEGRO, L. H. M.; OLIVEIRA, P. E. S.; CONSERVA, L. M.; ROCHAM, E. M. M.; BRITO, A. C.; ARAÚJO, R. M. TREVISAN, M. T. S.; LEMOS, R. P. L. Terpenóides e avaliação do potencial antimalárico, larvicida, anti-radicalar e anticolinesterásico de *Pouteria venosa* (Sapotaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, (supl.), p. 611-617, 2006.
- MORAES, A.; CASTRO, F. Diarreia aguda. **Journal of Molecular Biology**. v. 102, p. 21–28, mar/abr. 2014.
- MORTON, J. F. **Fruits of warm climates**. Miami: Creative Resource Systems, 1987. 505 p.
- MOTTA, M. E. F. A.; SILVA, G. A. P. DA. Diarreia por parasitas. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 2, n. 2, p. 117–127, 2002.
- MURRAY, P. et al. *Microbiologia médica*. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 220-223.

NASCIMENTO, W. M. O.; MÜLLER, C.H.; ARAÚJO, C.S.; FLORES, B.C. Ensacamento de frutos de abiu visando à proteção contra o ataque da mosca-das-frutas. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 33, n. 1, p. 48-52, mar. 2011.

NCCLS. 2000. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard, 7th ed. **NCCLS document M2-A7**. NCCLS, Wayne, Pa.

NCCLS. 2004. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing. Fourteenth informational supplement. **NCCLS document M100-514**. NCCLS, Wayne, Pa.

NIKIEMA, J. B.; VANHAELEN-FASTRÉ, R.; VANHAELEN, M.; FONTAINE, J.; De GRAEF, C.; HEENEN, M. Effects of antiinflammatory triterpenes isolated from *Leptadenia hastata* latex on keratinocyte proliferation. **Phytotherapy Research**, v. 15(2), p. 131-134, 2001.

NOGUEIRA, L. G. **Avaliação do potencial antimicrobiano de *Pouteria* spp. e de triterpenos quinonaméticos com enfoque no *Helicobacter pylori***. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, São Paulo.

NOGUEIRA, R. S.; SUASSUNA, I. R. Estudo de *Klebsiella* e seu envolvimento em diarreia infantil: uma avaliação. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 3, p. 307-316, 1983.

NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 2. ed. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2006. 113 p.

OFOSU, A. Clostridium difficile infection: a review of current and emerging therapies. **Annals of gastroenterology : quarterly publication of the Hellenic Society of Gastroenterology**, v. 29, n. 2, p. 147-54, 2016.

OKOBA, D. **Atividade Antimicrobiana dos Extratos Hidroalcoólicos de Frutos do Pantanal: *Byrsonima cydoniifolia* A. Juss. (Canjiqueira), *Pouteria glomerata* (Miq.) Radlk. (Laranjinha de pacu) e *Vitex cymosa* Bert. (Tarumã)**. 2016. Dissertação (Mestrado Saúde e Desenvolvimento), Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

OLIVEIRA, R.B. Diarreia Aguda. **Simpósio: Urgências e Emergências Digestivas**. Medicina, Ribeirão Preto. v. 36: p 257-260, dez. 2003.

OLIVEIRA, A. K. M; RIZZI, E. S.; PEREIRA, K. C. L.; BONO, J. A. M.; PINA, J. C.; MATIAS, R. Phytochemical analysis and fungicide potential of *Pouteria ramiflora* against *Lasiodiplodia theobromae*. **Horticultura Brasileira**, v. 35, p.564-570, 2017.

OLIVEIRA, A. K. M; PEREIRA, K. C. L; MULLER, J. A. I.; MATIAS, R. Análise fitoquímica e potencial alelopático das cascas de *Pouteria ramiflora* na germinação de alface. **Horticultura Brasileira**, v.32, p. 41-47, 2014.

OTTO, M. Staphylococcus epidermidis—the “accidental” pathogen. **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, n. 8, p. 555, 2009.

PALOMBO, E.A. Phytochemicals from traditional Medicinal Plants used in the treatment of diarrhoea: modes of action and effects on intestinal function. **Phytotherapy Research**. v. 20, p. 717-24, 2006.

- PATOČKA, J. Biologically active pentacyclic triterpenes and their current medicine Signification. **Journal of Applied Biomedicine**, v.1, p.7-12, 2003.
- PARASHAR, U. D.; GIBSON, C. J.; BRESEE, J. S.; GLASS, I. Rotavirus and severe childhood diarrhea. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 2, p. 304–306, 2006.
- PELLICCIARI, R.; ARDON, A.; BELLAVITA, V. Triterpenes from *Pouteria caimito*. **Planta Médica**, v. 22, p. 196-200, 1972.
- PENNINGTON, T. D. **Flora Neotropica: Sapotaceae**. The New York Botanical Garden, New York, United States, 1990, 770p.
- PEREIRA, C. S.; POSSAS, C. M. V.; VIANA, C. M.; RODRIGUES, D. P. Características de *Vibrio parahaemolyticus* isolados de mexilhões (Perna perna) comercializados em Niterói, Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 1, p. 56–59, 2007.
- PERFEITO, J. P.; SANTOS, M. L.; LÓPEZ, J. E.; SILVEIRA, P. D. Characterization and biological properties of *Pouteria torta* extracts: a preliminary study. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15(3), p.183-186, 2005.
- POWELL, C. V.; JENKINS, H. R. Toddler diarrhoea: is it a useful diagnostic label? **Archives of Disease in Childhood**, v. 97, p. 84–86, 2012.
- QUADROS, A.U.; BINI, D.; PEREIRA P.T.; MORONE, E. G.; MONTEIRO, M. C. Antifungal activity of some cyclooxygenase inhibitors on *Candida albicans*: PGE2-dependent mechanism. **Folia Microbiologica (Praha)**. v. 56, p.349–52, 2011.
- RAO, V. S. N.; SANTOS, F. A.; SOBREIRA, T. T.; SOUZA, M. F.; MELO, C. L.; SILVEIRA, E. R. Investigations on the gastroprotective and antidiarrhoeal properties of ternatin, a tetramethoxyflavone from *Egletes viscosa*. **Planta Médica**, v. 63, n. 2, p. 146-149, 1997.
- RAJIC, A.; KWEIFIO-OKAI, G.; MACRIDES, T.; SANDEMAN, R. M.; CHANDLER, D. S.; POLYA, G. M. Inhibition of serine proteases by anti-inflammatory triterpenoids. **Planta medica**, v. 66(03), p. 206-210, 2000.
- RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; MOORE, P. K. **Farmacologia**. 5ªed. Londres: Elsevier, 2003.
- READ, M.; READ, N. W.; BARBER, D. C.; DUTHIE, H. L. Effects of loperamide on anal sphincter function in patients complaining of chronic diarrhea with fecal incontinence and urgency. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 27, p.807, 1982.
- RIBEIRO, T. C da R.; CHEBLI, L. A; MALHEIROS, NA. P.; GUABURRI, D.; MATTAR, P. R.; PEIXOTO, D. S.; BERTOLINI, D.; PONZO, C. K. N.; PINHEIRO, B. V.; FERREIRA, L. E. V. V.de C.; GABURRI, P. D.; SOUZ, A. F. M. de M.; CHEBLI, J. F. Diarreia nosocomial: aspectos epidemiológicos de um problema emergente. **HU Revista**, v.24(2/3), p.16-22, maio-dez. 1998.
- RIDDLE, M.S.; DuPONT, H. L.; CONNOR, B. A. ACG Clinical Guideline: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Acute Diarrheal Infections in Adults. **The American Journal of Gastroenterology**. v. 111, p. 602-21, 2016.

RODRIGUES, P. M., GOMES, J. V. D., JAMAL, C. M., NETO, Á. C., SANTOS, M. L., FAGG, C. W.; FONSECA-BAZZO, Y. M.; MAGALHÃES, P. O.; SALES, P. M. de; SILVEIRA, D. Triterpenes from *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk. Leaves (Sapotaceae). **Food and Chemical Toxicology**, v.109, p. 1063-1068, 2017.

RODRIGUES, L. A. **Contribuição ao estudo bioquímico de frutas tropicais e exóticas produzidas no Brasil: pectina, açúcar e proteína**. 2009.110f. Dissertação – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo. 2009.

RODRIGUES, K. L. R.; MOREIRA, A. N.; ALMEIDA, A. T. S.; CHIOCHETTA, D.; RODRIGUES, M. J.; BROD, C. S.; CARVALHO, J. B.; ALEIXO, J. A. G. Intoxicação estafilocócica em restaurante institucional. **Ciência Rural**, v.34, n.1, p.297-299, 2004.

ROCHA, M. F.; SIDRIM, J. J.; LIMA, A. A. O *Clostridium difficile* como agente indutor de diarreia inflamatória. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 1, p. 47–52, 1999.

SACCARO JR, N. L. A regulamentação de acesso a recursos genéticos e repartição de benefícios: disputas dentro e fora do Brasil. **Ambiente e sociedade**. v. 14, n. 1, p. 229-244, jun. 2011.

SÁEZ-LLORENS X, CASTREJÓN-DE WONG M, CASTAÑO E, DE SUMAN O, MORÓS D, DE ATENCIO I. Impact of an antibiotic restriction policy on hospital expenditures and bacterial susceptibilities: a lesson from a pediatric institution in a developing country. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v.19, p. 200-206, 2000.

SANTOS, R. F. E. P., SILVA, I., VERÍSSIMO, R., LÚCIO, I., CAMPESATTO, E., CONSERVA, L., & BASTOS, M. Estudo do potencial antimicrobiano e citotóxico da espécie *Pouteria venosa* (Sapotaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17(3), p. 367-373, 2015.

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C. de; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

SCHRAMM, J. M.de A.; OLIVEIRA, A. F.; LEITE, I.da C.; VELENTE, J. G.; GADELHA, A. M. J.; PORTELA, M. C.; CAMPOS, M. R. Transição epidemiológica e o estudo de carga de doença no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**; v. 9, n.4, p. 897-908, set. 2004.

SHAI, L.J.; McGaw, L. J.; ADEROGBA, M. A. MDEE, L. K.; ELOFF, J. N. Four pentacyclic triterpenoides with antiungal and antibacterial activity from *Curtisiadentate* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v.119, p. 238-244, 2008.

SHINOHARA, N. K. S.; BARROS, V.B. de B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. de C. L.; DUTRA, R. A. F. D.; LIMA FILHO, J. L. de. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciências e saúde coletiva**, v. 13, n. 5, p. 1675-1683, 2008.

SILVA, C. A M.; SIMEONI, L. A; SILVEIRA, D. Genus *Pouteria* : Chemistry and biological activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2A, p. 501–509, 2009.

- SILVA, C. A. de M. **Contribuição ao estudo químico e biológico de *Pouteria gardnerii* (Mart & Miq.) Baehni (Sapotacea)**. 2007. Dissertação Mestrado de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília.
- SIMÕES, C. M. O.; SPTIZER V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre, 6. ed. Editora da UFRGS, p.29-43, 2004.
- SIQUEIRA, A. P. S.; OLIVEIRA, J. D. M.; JUNIOR, M.; RIBEIRO, D.; LOURENÇO, M. F. D. C. Chemical characterization and antioxidant capacity of Guapeva. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. SPE, 2017.
- SIKKEMA, J.; DE BONT, J. A. M.; POOLMAN, B. Mechanism of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological Review*, v.59, p.202-222, 1995
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. **Guia prático de atualização: Diarréia Aguda: diagnóstico e tratamento**. São Paulo: Departamento Científico de Gastroenterologia, nº1, março, 2017.
- SOUZA, A. G. C.; SOUSA, N. R.; SILVA, S. E. L.; NUNES, C. D. M.; CANTO, A. C.; CRUZ, L. A. A. **Fruteiras da Amazônia**. Brasília: EMBRAPA, 1996. v. 1, 204 p.
- SOUZA, R.R.; YAMAGUCHI, K. K. L. Caracterização fitoquímica de casca de abiu (*Pouteria caimito* (Ruiz et Pavon) Radlk., Sapotaceae) para uso biotecnológico. IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 2017, Gramado. Anais eletrônicos... Gramado, 2017, Disponível em: http://www.abq.org.br/cbq/trabalhos_aceitos_detalhes,12141.html . Acesso em 7 set. 2017.
- SKARP, CP; HÄNNINEN M.L; RAUTELIN H. I. Campylobacteriosis: the role of poultry meat. **Clinical Microbiology Infection**. v.22 (2), p.103-109, dec. 2015.
- TANGPU, V.; YADAV, A. V. Antidiarrhoeal activity of *Rhus javanica* ripen fruit extract in albino mice. **Fitoterapia**, v. 75, p.39-44, 2004.
- THIELMAN, N.M; GUERRANT, R. L. Acute Infectious Diarrhea. **New England Journal of Medicine**. v.350(1), p 38-47. 2004.
- TROMBETTA, D.; CASTELLI, F.; SARPIETRO, M. G.; VENUTI, V.; CRISTANI, M.; DANIELE, C.; SAIJA, A.; MAZZANTI, G.; BISIGNANO, G. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. **Antimicrobial Agents of Chemotherapy**., v.49, p.2474–2478, 2005.
- VICTORA C.G.; BRYCE, J.; FONTAINE, O.; MONASCH, R. Reducing deaths from diarrhoea through oral rehydration therapy. **Bulletin of the World Health Organization**. v.78, p. 1246-55, 2000.
- VICTORA, C. G; FUCHS, S. C. Breast-feeding, nutritional status, and other prognostic factors for dehydration among young children with diarrhoea in Brazil. **Bulletin of the World Health Organization**. v. 70, p. 467-75, 1992.
- VILA, J.; RUIZ, J.; GALLARDO, F.; VARGAS, M.; SOLER, L.; FIGUERAS, M.J.; GASCON, J. *Aeromonas* spp. and Traveler's Diarrhea: clinical features and antimicrobial resistance. **Emerging Infectious Diseases Journal**.v.9, p. 552-555, may. 2003.

VISHER, P., CASALS-STENZEL, J. Influence of prostacyclin and indomethacin on castor oil induced gastrointestinal effects in rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.35, p.152–156, 1983.

WALDMAN, E.A.; SATO, A.P.S. Trajetória das doenças infecciosas no Brasil nos últimos 50 anos: um contínuo desafio. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, p.68, 2016.

WAL, P.; WAL, A.; SHARMA, G.; RAI, A. Biological activities of lupeol. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v.2(2), p. 96, 2011.

WONG, CL.; WAI, MK. Effects of aspirin and paracetamol on naloxone reversal of orphine-induced inhibition of gastrointestinal propulsion in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 73, p. 11-19, 1981.

WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION GLOBAL GUIDELINE. WGO. A Biblioteca das Diretrizes. A WGO contém diretrizes de prática escritas a partir de um ponto de vista de aplicabilidade global. Practice Guideline - Acute Diarrhea. Disponível em: <http://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/acute-diarrhea/acute-diarrhea-portuguese>. Acesso em 21 de abr.2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. A Biblioteca das Diretrizes. A WGO contém diretrizes de prática escritas a partir de um ponto de vista de aplicabilidade global. Infectious diseases. Disponível em: <http://www.who.int/csr/resources/publications/en/> . Acesso em: 16/01/2018.

YAHIA, E. M.; GUTIÉRREZ-OROZCO, F.; ARVIZU-DE LEON, C. Phytochemical and antioxidant characterization of mamey (*Pouteria sapota* Jacq. HE Moore & Stearn) fruit. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2175-2181, 2011.

ZOU, L.K.; WANG, H.N.; ZENG, B.; LI J.N.; LI, X. T.; ZHANG, A. Y.; ZHOU, Y. S.; YANG X.; XU C.W.; XIA Q.Q. Erythromycin resistance and virulence genes in *Enterococcus faecalis* from swine in China. **New Microbiologica**, v.34, p. 73-80, 2011

Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética no Uso de animais da Universidade Federal do Amapá



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA – UNIFAP

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Amapá **APROVOU**, na reunião de 02 de fevereiro de 2017, o parecer referente ao protocolo no. **0017/2016** e certifica que o Projeto de Pesquisa intitulado "**Investigação dos possíveis efeitos antidiarreico e antimicrobiano do extrato da casca do *Pouteria caimito***" coordenado por **Alessandra Azevedo do Nascimento**, está de acordo com os princípios de ética e bem estar animal.

CERTIFICATE

The Ethics Committee on Animal Use of the Amapá Federal University **APPROVED** at the meeting of 02 February 2017, the final decision about the Protocol **0017/2016** and certify that the research project entitled "**Investigação dos possíveis efeitos antidiarreico e antimicrobiano do extrato da casca do *Pouteria caimito***" coordinated by **Alessandra Azevedo do Nascimento**, is in accordance with the principles of ethics and animal welfare.

Macapá, 02 de fevereiro de 2017


Prof. Tit. José Carlos Tavares Carvalho
Presidente CEUA-UNIFAP
Port. No. 1733/2014

Universidade Federal do Amapá
Pro-Reitoria de Pesquisa e Pós- Graduação
Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA – UNIFAP
Rod. Juscelino Juscelino Kubitscheck, km 02 – Campus Marco Zero,
Macapá - AP. 68903-419 email: farmacos@unifap.br
Fone (96)4009-2907

Anexo 2 - Identificação e Incorporação da Amostra Botânica do fruto *Pouteria caimito*



Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá – IEPA
Núcleo de Biodiversidade – NUBIO
Herbário Amapaense - HAMAB

PARECER

PAR. Nº 06/2018 – HAMAB

Macapá, 22 de fevereiro de 2018.

De: **Tonny David Santiago Medeiros – Curador HAMAB**
A: **Marina Medeiros de Abreu – UNIFAP**
Assunto: **Identificação e Incorporação de Amostras Botânicas**

Prezada Senhora,

Conforme procedimentos adotados à identificação e incorporação do material enviado a este herbário, segue a confirmação do nome científico aceito e informações de registro:

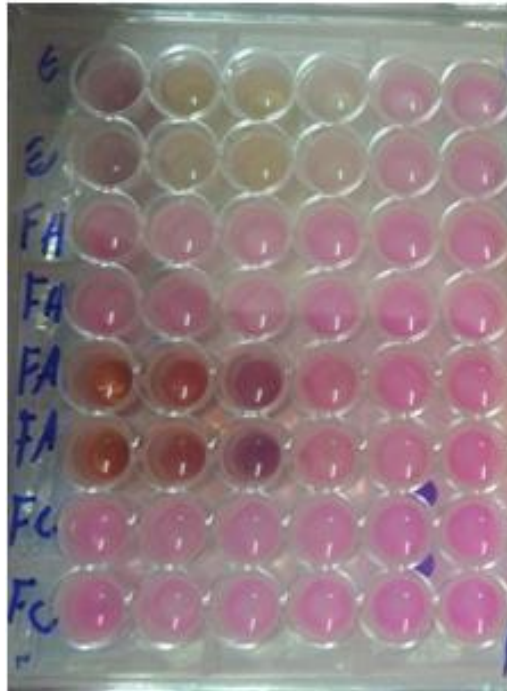
Nome Científico	Família	Local da Coleta / Data	Coletor(res) - Nº	Nº HAMAB
<i>Pouteria caimito</i> (Ruiz Pav.) Radlk	Sapotaceae	Brasil, Amapá, Santana, Av. Francisco de Melo Parente, nº 215 / 06.08.2017	M.M. Abreu - 01	019138

Atenciosamente,

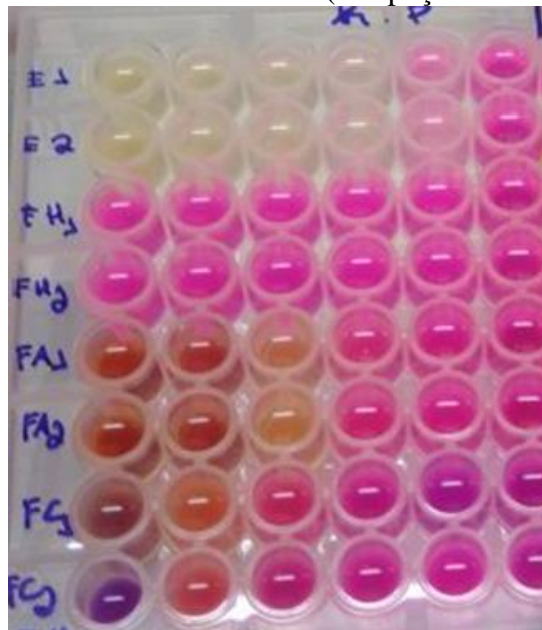
Me. Tonny David Santiago Medeiros
Curador do Herbário Amapaense – HAMAB/NUBIO/IEPA
Decreto Nº 0125 – 23.01.2018/IEPA/GEA

Tonny D.S. Medeiros
Inst. Peq. Cient. e Téc.
do Estado do Amapá - IEPA
Pesquisador

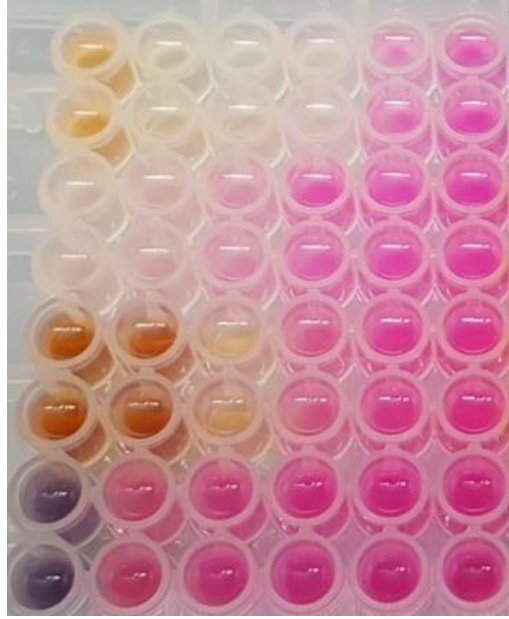
Anexo 3 - Foto de placa do ensaio para cepa de *Escherichia coli* após ser revelada com a resazurina, onde se observa o crescimento bacteriano (nos poços róseos).



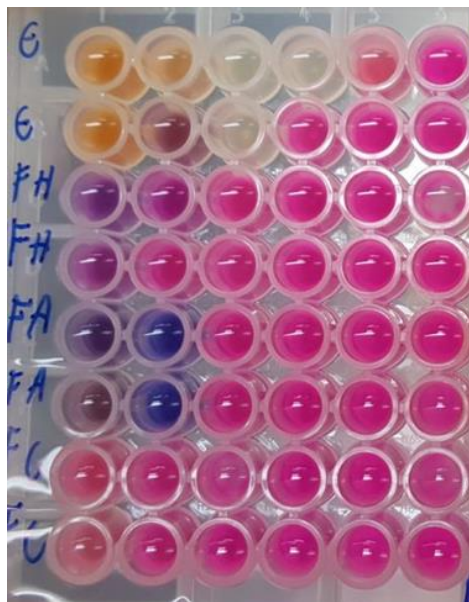
Anexo 4 - Foto de placa do ensaio para cepa de *Klebsiella pneumoniae* após ser revelada com a resazurina, onde se observa o crescimento bacteriano (nos poços róseos).



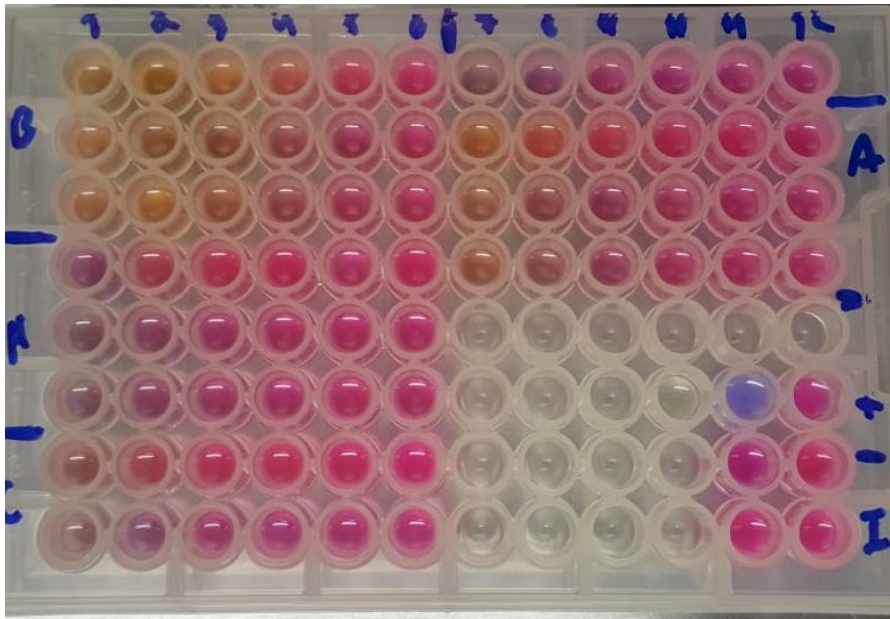
Anexo 5 - Foto de placa do ensaio para cepa de *Staphylococcus epidermidis* após ser revelada com a resazurina, onde se observa o crescimento bacteriano (nos poços róseos).



Anexo 6 - Foto de placa do ensaio para cepa de *Staphylococcus aureus* após ser revelada com a resazurina, onde se observa o crescimento bacteriano (nos poços róseos).



Anexo 7- Foto de placa do ensaio para cepa de *Enterococcus faecalis* após ser revelada com a resazurina, onde se observa o crescimento bacteriano (nos poços róseos).



Anexo 8- Foto de placa do ensaio para cepa de *Salmonella tiphy* após ser revelada com a resazurina, onde se observa o crescimento bacteriano (nos poços róseos).

