

LUCAS RIBEIRO DE OLIVEIRA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DA SEMENTE DO MAMÃO PAPAIA
(*Carica papaya* L.).**

Assis
2015

LUCAS RIBEIRO DE OLIVEIRA

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DA SEMENTE DO MAMÃO PAPAIA
(Carica papaya L.).

Trabalho de conclusão de Curso apresentado
ao Instituto Municipal de Ensino Superior de
Assis, como requisito do Curso de
Graduação.

Orientador: Prof.^a Dr^a Mary Leiva de Faria

Área de Concentração: Química

Assis

2015

FICHA CATALOGRÁFICA

OLIVEIRA, Lucas Ribeiro de

Atividade antibacteriana da semente do mamão papaia (*Carica papaya L.*)/
Lucas Ribeiro de Oliveira. Fundação Educacional do Município de Assis –
FEMA - Assis, 2015.

51 p.

Orientador: Prof.^a Dr^a Mary Leiva de Faria

Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de
Ensino Superior de Assis – IMESA/FEMA

1. Mamão Papaia. 2.Sementes. 3. Antibiograma.

CDD: 660

Biblioteca da FEMA

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DA SEMENTE DO MAMÃO PAPAIA
(*Carica papaya* L.)

LUCAS RIBEIRO DE OLIVEIRA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis,
como requisito do Curso de Graduação, analisado
pela seguinte comissão examinadora.

Orientador: Prof.^a Dr^a Mary Leiva de Faria

Analizador (1): Prof^a. Ms. Elaine Amorim Soares Menegon

Assis
2015

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais pelo apoio e dedicação para comigo ao longo da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me dar saúde e força nas horas que eu mais precisei

A professora, Mary Leiva de Faria, pela paciência que ela teve comigo, e não foi pouca, as orientações e pelo empenho que ela teve para a realização desse trabalho.

Aos amigos da minha turma, em especial aos mais próximos, Fernanda Rodella, Jean Cordeiro e Rafaela Sargi, pelos momentos difíceis e os de felicidades que passamos juntos durante esses anos. A professora Elaine Amorim e todo os funcionários do CEPECI pela ajuda na realização da parte experimental do trabalho.

E aos meus Familiares que sempre me apoiaram e ajudaram para mais essa realização.

Só se pode alcançar um grande êxito quando nos mantemos fiéis a nós mesmos.

Friedrich Nietzsche

RESUMO

O uso de plantas medicinais tem sido frequente em todo mundo, principalmente em países subdesenvolvidos, visto que medicamentos ocidentais ortodoxos são mais caros e de difícil aquisição. O mamão, pertencente à família *Caricaceae*, é uma das plantas mais cultivadas no mundo, principalmente nos países tropicais e subtropicais, onde a temperatura varia em torno de 25°C. Estudos apontam que o mamão apresenta atividade biológica em várias partes da planta, incluindo o fruto, a folha a semente ou látex. Inúmeros trabalhos abordam que o extrato da semente do mamão, obtidos por extração aquosa ou com solventes orgânicos, tem apresentado atividade antimicrobiana. Uma análise fitoquímica feita da semente do mamão apresentou vários constituintes químicos, onde um deles é a aglicona, conhecida como isotiocianato de benzila, que apresenta atividade antimicrobiana. O emprego medicinal da semente do mamão é uma alternativa para criação de novos antibióticos não só mais eficazes mais também de mais fácil acesso a população como um fonte terapêutica alternativa. Neste contexto, o objetivo deste trabalho é avaliar a atividade antimicrobiana do extrato bruto alcoólico e etéreo (éter de petróleo) de sementes de *C. papaya* frente a bactérias patogênicas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Primeiramente foi retirado a semente da fruta, as sementes foram lavadas e enxugadas com água estéril, secas e trituradas. Foram preparados os extratos e feito o teste de antibiograma com as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, onde os discos foram esterilizados e impregnados com 60 µL dos extratos. Para verificar a influência do solvente foi realizado o teste com discos impregnados apenas com o solvente. No teste de antibiograma realizado foi constatado que os extratos de sementes de mamão nas concentrações usadas não apresentaram atividade antibacteriana contra as bactérias usadas. Os resultados obtidos indicam que as bactérias *S. aureus* e *E. coli* não se mostraram sensíveis frente a concentração dos extratos utilizados, visto que não houve formação de halos de inibição.

Palavras-chave: Mamão papaia, Sementes, Antibiograma.

ABSTRACT

The use of medicinal plants has been common throughout the world, especially in underdeveloped countries, where western orthodox medicines are more expensive and difficult to purchase. The papaya that belongs to the Caricaceae family is one of the most cultivated plants in the world, mostly in tropical and subtropical countries, where the average temperature is 25° C. Studies show that the papaya presents biological activity in various parts of the plant, including the fruit, leaf, seed or latex. Several works point that the extract of the papaya seed, obtained by aqueous extraction or with organic solvents, has shown antimicrobial activity. A phytochemical analysis made of the papaya seed presented various chemical constituents, where one of them is the aglycone, known as benzyl isothiocyanate, responsible for the antimicrobial activity. The medicinal job of the papaya seed is an alternative creation of new antibiotics not only more effective but also more easy access to population as an alternative therapeutic source. In this context, the objective of this work is to evaluate the antimicrobial activity of the crude extract alcoholic and ethereal (petroleum ether) of seeds of *C. papaya* in front of *Staphylococcus aureus* and pathogenic bacteria *Escherichia coli*. First was taken from the seed of the fruit, the seeds were rinsed and dried with sterile water and dried and crushed. The extracts were prepared and made the culture test with bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, where the discs were sterilized and impregnated with 60 µL of the extracts. To verify the influence of the solvent test was made with impregnated discs only with the solvent. In the antibiogram conducted test it was found that the extracts of papaya seeds in the concentrations used did not show antibacterial activity against the bacteria used. The results obtained indicate that the bacteria *S. aureus* and *E. coli* were not sensitive front of concentration of extracts used, since there was no formation of inhibition halos.

Keywords: Papaya; Seeds; Antibiogram.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Área e produção de Mamão, no Brasil, de 1996-2005.....	16
Figura 2 - Tipos de flores do Mamoeiro	18
Figura 3 - Mamão tipo "Comum"	20
Figura 4 - Mamão tipo "Solo".....	21
Figura 5 - Mamão tipo "Formosa"	21
Figura 6 - Estrutura de alguns componentes químicos presentes na semente de mamão	22
Figura 7 - Estrutura do benzilglicosinolato mostrando a parte glicona e a parte aglicona.....	23
Figura 8 - Degradação do glicosinolato pela mirosinase	24
Figura 9 - Estrutura do isotiocianato de benzila	24
Figura 10 - Colônia de <i>Staphylococcus aureus</i> em meio baird parker agar.	29
Figura 11 – Micrografia da bactéria <i>Escherichia coli</i>	31
Figura 12 - Ciclo de transmissão da <i>E. coli</i>	34
Figura 14 - Sementes lavadas.....	38
Figura 15 - Preparo do extrato de éter de petróleo.	38
Figura 16 - Preparo do extrato etanólico	39
Figura 17 - Crescimento da bactéria <i>E. coli</i>	41
Figura 18 - Crescimento da bactéria <i>S. aureus</i>	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Valor nutritivo de 100g de mamão papaia.....	17
Tabela 2	- Composição centesimal das sementes de mamão, dos grupos ‘Formosa’ e ‘Solo’.....	18

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. MAMÃO PAPAYA	16
2.1 ORIGEM	16
2.2 DISTRIBUIÇÃO	16
2.3 BOTÂNICA	17
2.3.1 Morfologia	17
2.3.1.1 Fruto	17
2.3.1.2 Flor	18
2.3.1.3 Sementes	19
2.4 VARIEDADES	19
3. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA SEMENTE	22
4. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS	25
5. <i>Staphylococcus aureus</i>	28
5.1. DESENVOLVIMENTO	29
5.2 FORMAS DE RESISTÊNCIA	30
6. <i>Escherichia coli</i>	31
7. PREPARAÇÃO DO EXTRATO DA SEMENTE DE <i>C. papaya</i>: UMA ALTERNATIVA PARA O ENSINO DE POLARIDADE E FUNÇÕES ORGÂNICAS	35
8. MATERIAIS E MÉTODOS	37
8.1 MATERIAIS	37
8.1.1 Equipamentos	37

8.1.2 Materiais.....	37
8.1.3 Reagentes	38
8.1.4 Sementes do mamão.....	38
8.2 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	38
8.2.1 Preparo e secagem das sementes do mamão	38
8.2.2 Preparo do Extrato de éter de petróleo	39
8.2.3 Preparo do extrato de etanol	40
8.2.4 Preparo do inóculo.....	40
8.2.5 Preparo dos meios	41
8.2.6 Plaqueamento	41
8.2.6.1 Superfície	41
8.2.6.2 Profundidade	41
8.2.7 Antibiógrama	42
9. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
10. CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS	47

1. INTRODUÇÃO

O emprego de plantas locais como fonte de fármacos é muito comum na Ásia, América Latina, USA, China, Japão e África. Só no oeste da África há mais de 10.000 plantas medicinais empregadas na prevenção e tratamento de doenças (ORHUE; MOMOH, 2013).

Atualmente, o uso de plantas medicinais nos países de terceiro mundo tem crescido, visto que os medicamentos ocidentais ortodoxos são relativamente caros e de difícil aquisição. Já a grande disponibilidade das plantas medicinais, associada à sua tradição de uso, tem tornado permanente seu emprego na cura de doenças (GONÇALVES, 2010; ORHUE; MOMOH, 2013).

O mamão (*Carica papaya L.*), uma das plantas mais cultivadas do mundo, principalmente em áreas tropicais e subtropicais onde a temperatura anual é em média de 25°C, pertence à família *Caricaceae* (SILVA; DINIZ & SILVA, 2007).

Vários estudos têm sido realizados para avaliar as atividades biológicas das várias partes da planta, incluindo a fruta, folhas, sementes ou látex (ORHUE; MOMOH, 2013). Inúmeros trabalhos abordam que o extrato de semente de mamão, obtidos por extração aquosa ou com solventes orgânicos, tem apresentado atividade antimicrobiana (EKE; AUGUSTINE & IBRAIM, 2014; NAYAK et al., 2012; KRISHNA; PARIDHAVI & PATEL, 2008).

A bioatividade de uma planta é atribuída a seus constituintes químicos. A análise fitoquímica das sementes de *C. papaya* indicou a presença de saponinas, alcalóides, glicosídeos cardiotônicos, taninos, antraquinonas, triterpenos, esteróides e flavonóides. Os estudos realizados indicam que os taninos, glicosídeos, alcalóides e uma aglicona, conhecida como isotiocianato de benzila, são os responsáveis pela atividade antimicrobiana (EKE; AUGUSTINE & IBRAIM, 2014; NAYAK et al., 2012).

O emprego medicinal do fruto, sementes e folhas de *C. papaya* descrita na literatura são fatores que induzem a uma investigação das atividades antimicrobianas de

extratos de sementes de *C. papaya*. Além disso, a resistência aos agentes antimicrobianos hoje disponíveis impulsiona o desenvolvimento de novas fontes de antibióticos que devem ser não apenas mais eficazes, mas também mais disponíveis à população como fonte terapêutica alternativa. (NAYAK et al., 2012; KRISHNA et al., 2008)

Neste contexto, o objetivo deste trabalho é avaliar a atividade antimicrobiana do extrato bruto alcoólico e etéreo (éter de petróleo) de sementes de *C. papaya* frente a bactérias patogênicas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

2. MAMÃO PAPAYA

2.1 ORIGEM

O mamão, *Carica papaya* L., é originário das planícies do leste da América Central, do México ao Panamá. Suas sementes foram distribuídas para o Caribe e o sul da Ásia durante a exploração espanhola no século 16, de onde se espalhou para a Índia, Pacífico e África. O mamão é hoje cultivado em todos os países tropicais e muitas regiões sub-tropicais do mundo (OLIVEIRA et al., 2004).

2.2 DISTRIBUIÇÃO

No Brasil como um todo, tomando o período 1996-2005, a produção brasileira de mamão avançou de 1.098 mil toneladas para 1.574 mil toneladas, ainda que a área cultivada após ter crescido de 33 mil hectares em 1996 para 40 mil hectares em 1998, manteve-se nesse patamar até o ano 2000, desde quando recuou para os mesmos 33 mil hectares em 2005. A persistência do avanço da produção permite afirmar a ocorrência de aumentos de produtividade (Figura 1) (SOUZA, 2007).

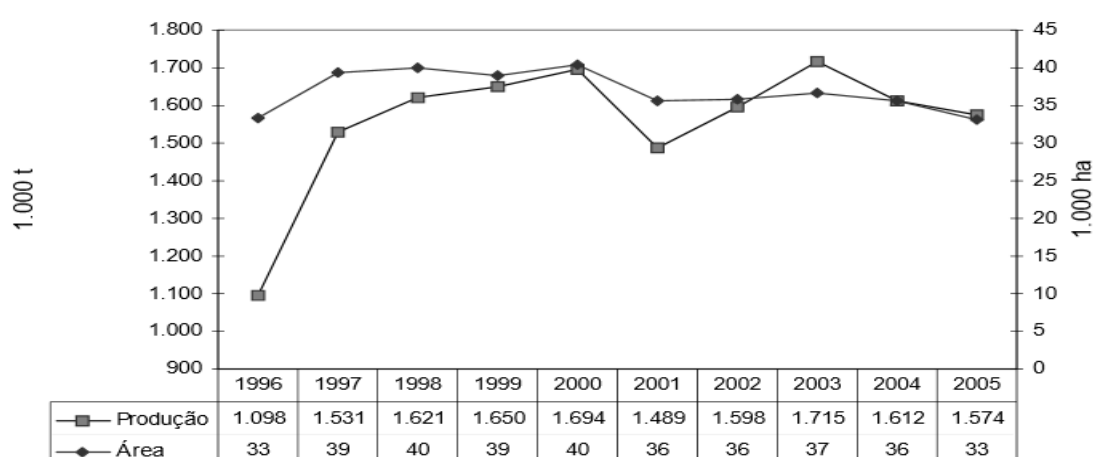


Figura 1 - Área e produção de Mamão, no Brasil, de 1996-2005 (SOUZA, 2007,p. 25).

O Brasil tem sido o maior produtor de mamão, com oferta, nos últimos anos, em torno de 45% da produção mundial. Nas terras nacionais a zona de cultivo mais relevante localiza-se no sul da Bahia e no norte do Espírito Santo. No comércio internacional, as vendas brasileiras ocupam o 3º lugar, depois do México e da Malásia (SOUZA, 2007).

2.3 BOTÂNICA

2.3.1 Morfologia

2.3.1.1 Fruto

A característica mais marcante na fruta é sua aparência constituída de cor, brilho tamanho e forma. Sendo essas características uma importante decisão do consumidor ao comprar a fruta. O mamão pode ser consumido tanto natural (*in natura*), como pode ser comercializados como geléias, sucos e doces. (VENTURINI et al., 2012).

O mamão também tem vários usos industriais, suas folhas e frutos produzem diversas proteínas e alcalóides com importantes aplicações farmacêuticas e industriais. (VENTURINI et al., 2012).

A tabela 1 mostra a composição nutricional de mamão papaia maduro e verde.

Constituintes	Mamão papaia maduro	Mamão papaia verde
Proteínas	0.6 g	0.7 g
Gorduras	0.1 g	0.2 g
Minerais	0.5 g	0.5 g
Fibra	0.8 g	0.9 g
Carboidratos	7.2 g	5.7 g
Valor Energético	32 kcal	27 kcal
Total de caroteno	2,740 µm	0
Beta caroteno	888 µm	0

Tabela 1 – Valor nutritivo de 100 g de mamão papaia (In: Krishna; Paridhavi e Patel, 2008).

2.3.1.2 Flor

O mamoeiro possui essencialmente três tipos de flores, as quais originam plantas do sexo masculino, feminino e hermafrodita (figura 2). O sexo das flores do mamoeiro (*Carica papaya L.*) determina formatos diferentes aos frutos. Flores hermafroditas formam frutos alongados e flores femininas frutos arredondados. No entanto, o mercado de mamão prefere frutos com formato piriforme ou alongado (RIGOTTI, 2015)



Figura 2 - Tipos de flores do Mamoeiro (RIGOTTI, 2015, p.6)

2.3.1.3 Sementes

As sementes de mamão podem ser transformadas em produtos de valor significativos, devido ao seu potencial nutritivo e sua atividade antioxidante, apresentando-se como uma alternativa natural para ser aplicadas em alimentos (MALACRIDA e JORGE, 2008).

A tabela 2 mostra a composição centesimal das sementes de mamão.

Componentes	Quantidade (%)	
	Formosa	Solo
Umidade	8,6	8,4
Lipídios	27,5	25,8
Proteínas	25,3	26,6
Cinzas	7,8	7,5
Fibras	28,2	29,9
Carboidratos (por diferença)	2,8	1,8

Tabela 2 - Composição centesimal das sementes de mamão, dos grupos 'Formosa' e 'Solo' (MALACRIDA e JORGE, 2008).

2.4 VARIEDADES

O grupo "Comum" é bastante mais cultivado em cultivos caseiros e pouco utilizado industrialmente, seus frutos são grandes podendo chegar até 2000 g, sua polpa varia de amarelo a avermelhado (figura 3) (RIGOTTI, 2015).



Figura 3 - Mamão tipo "Comum" (In: RIGOTTI, 2015, p.8)

No Brasil o mamão é bastante cultivado em todo o país, merecendo o destaque os estados do Espírito Santo e Bahia com cerca de 83% da produção nacional (Souza, 2000). Nesses estados a introdução dos de cultivares havainanas do grupo 'solo' e dos híbridos do grupo 'formosa', possibilitou que a exportação dessa fruta se tornasse em pouco anos uma grande importância econômica. (Pereira, 2003).

Os grupos que mais se destacam no cultivo de mamão são os pertencentes ao grupo 'Solo' e ao grupo 'Formosa'. Dentre as variedades do 'Solo', se destacam as variedades *Sunrise Solo*, *Improved Solo Line 72/12* e *Baixinho de Santa Amália*. E com aumento da exigência do mercado externo (EUA), os cultivares de *Sunrise Solo*, *Improved Sunfire Solo Line 72/12*, que são muito susceptíveis a Mancha Fisiológica do Mamão (MFM), eles estão sendo trocados pela cultivar *Sunrise Golden* que é menos susceptível a MFM. Do grupo 'Formosa', as variedades que se destacam são os híbridos *Tainung 01*, *Tainung 02* e *Tainung 03* (Brasil, 1994)

A MFM é uma desordem que consiste na presença de pústulas na casca dos frutos, que depreciam sua aparência externa, prejudicando o comércio interno e, principalmente, a exportação (Kaiser et al., 1996)

O grupo "Solo" é procedente do Havaí (EUA), e é mais conhecido no Brasil como mamão havaiano ou papaia. O fruto proveniente de flor feminina é oval e de flor hermafrodita é periforme, com peso médio de 500g possui casca lisa e firme, polpa vermelho-alaranjado. Começa a floração com três a quatro meses de idade, e sua produção é em média 45 t/ha/ano. (Figura 4) (TRINDADE, 2000)



Figura 4 - Mamão tipo "Solo" (In: RIGOTTI, 2015, p. 8)

O grupo "Formosa" (figura 5), composto por mamoeiros híbridos que seus frutos apresentam um peso médio de 800 a 1100g(QUEIROZ, 2009), apresenta polpa vermelha de bom sabor, maturação rápida, com pouca resistência ao transporte, sua produção média é de 60t/ha/ano. (EMBRAPA)



Figura 5 - Mamão tipo "Formosa" (In: RIGOTTI, 2015, p. 9)

3. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA SEMENTE

O mamão papaya contém um amplo espectro de componentes fitoquímicos, estando presentes nas várias partes das plantas. Dentre estes componentes estão incluídos polissacarídeos, vitaminas, minerais, enzimas, proteínas, alcalóides, glicosídeos, gorduras, óleos, saponinas, flavonóides, esteróis, etc. Especificamente nas sementes estão presentes ácidos graxos, proteína bruta, fibra bruta, o glicosídeo benzilglicosinolato, o alcalóide carpaína, a aglicona isotiocianato de benzila (BITC), o hidrocarboneto sólido hentriacontane, o esterol β -sitosterol, a benziltiouréia, e a enzima mirosina (KRISHNA;PARIDHAVI; PATEL, 2008). A figura 6 mostra alguns dos componentes químicos presentes na semente de mamão.

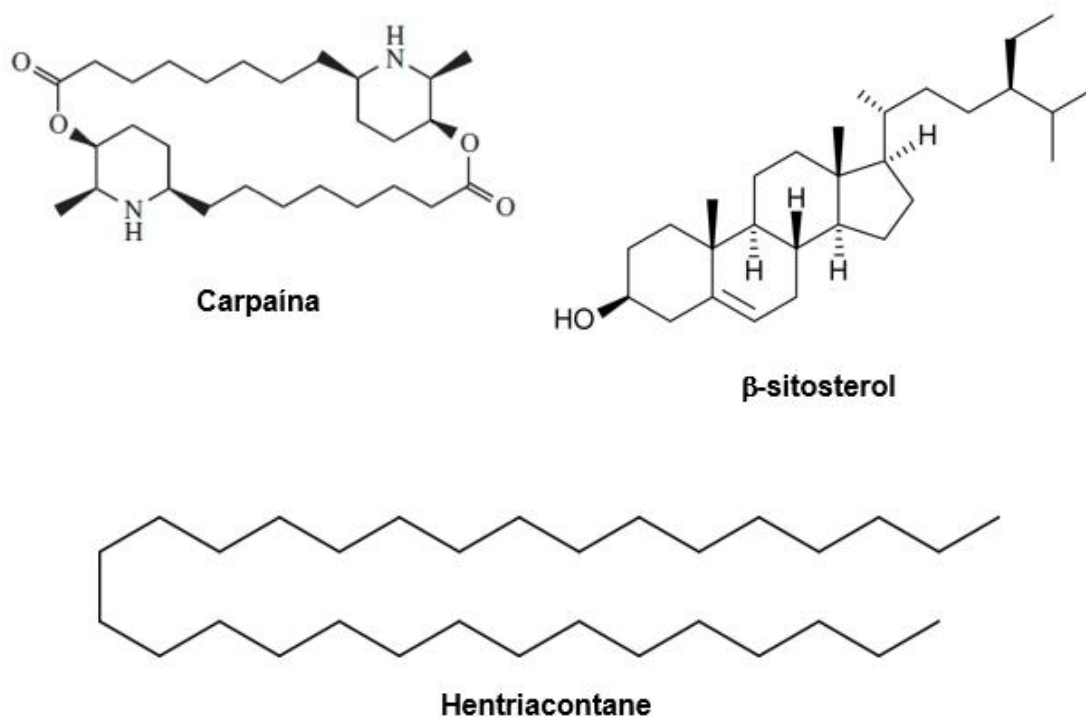


Figura 6 - Estrutura de alguns componentes químicos presentes na semente de mamão (In: <https://es.wikipedia.org>, 2015)

O benzilglicosinolato (glicotropaelina) (figura 7) é um glicosídeo que pertence ao grupo dos glicosinolatos. Os glicosídeos são substâncias compostas por uma parte açúcar (ou glicona) e outra parte não açúcar (ou aglicona) (RIBEIRO, 2014; ROSSETO, 2005).

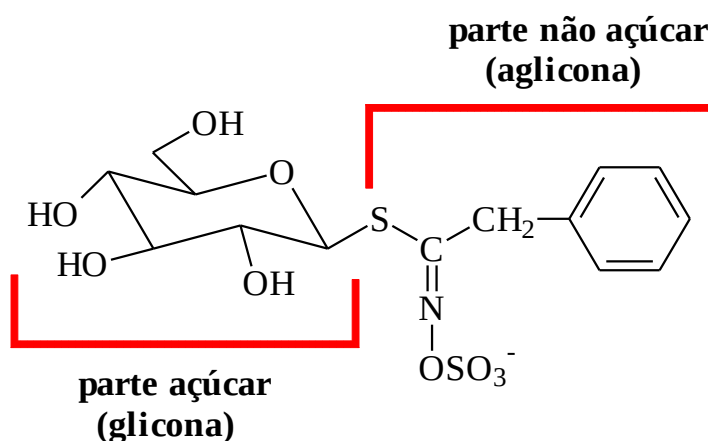


Figura 7 - Estrutura do benzilglicosinolato mostrando a parte glicona e a parte aglicona (In: adaptado de ROSSETO, 2005, p. 25)

As plantas biossintetizam e armazenam estes glicosídeos inativos, os quais sob hidrólise enzimática liberam a aglicona (geralmente um metabólito secundário) e a glicona (RIBEIRO, 2014). Esta hidrólise é catalisada pela mirosinase, uma enzima presente no próprio vegetal e na flora intestinal dos seres humanos e animais. Segundo Castro, Anjos e Oliveira (2008), “esta enzima é ativada quando a planta sofre algum tipo de injúria ou sob a ação de fungos ou, ainda, pela mastigação de insetos ou, então, pela própria mastigação das plantas frescas.

De acordo com Rosseto (2005), esta degradação é uma etapa importante, visto que através dela é que compostos com atividade biológica são liberados, fornecendo vários compostos, cuja natureza e função bioquímica é regida por fatores como pH, presença de cofatores e essencialmente pela estrutura das cadeias laterais dos glicosinolatos envolvidos.

A figura 8 mostra a degradação de um glicosinolato pela mirosinase.

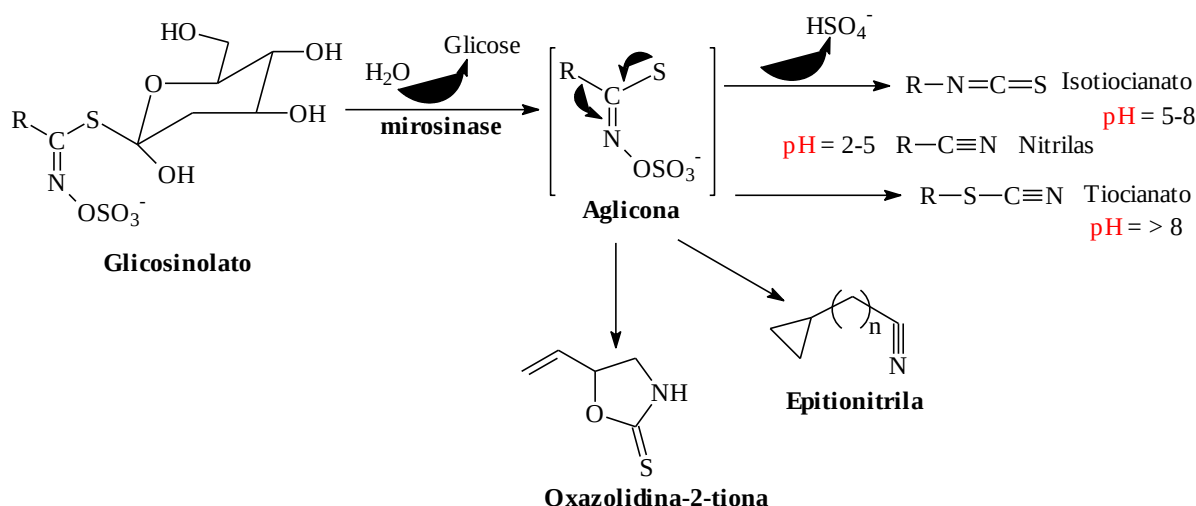


Figura 8 - Degradação do glicosinolato pela mirosinase (In: ROSSETO, 2005, p. 33)

Como o mamão apresenta a característica genética a produção específica do benzilglicosinolato, este substrato é convertido pela mirosina em isotiocianato de benzila (figura 9), o qual é responsável por algumas atividades biológicas desta fruta (ROSSETO, 2005; CASTRO, ANJOS e OLIVEIRA, 2008).

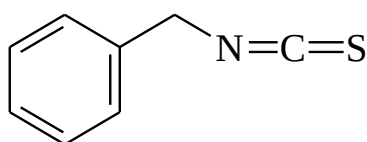


Figura 9 - Estrutura do isotiocianato de benzila (In: FENNEMA, 2010, p.334)

De acordo com Castro, Anjos e Oliveira (2008), a concentração de isotiocianato de benzila (BITC) no mamão (*Carica papaya*) aumenta nas sementes e diminui na polpa, à medida que o fruto amadurece.

A análise fitoquímica realizada por Nayak et al. (2012), indicou a presença não só esteróis e alcalóides, mas também de triterpenos e flavonóides nas sementes de mamão (*Carica papaya*)

4. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) cerca de 80% da população já utilizou alguma planta a fim de aliviar determinados sintomas dolorosos e desagradáveis. A população de baixa renda é a que mais consome plantas medicinais de cultivos caseiros, pois buscam suprir as necessidades de assistência médica convencional (MAIA, 2007).

Frutas, vegetais e cereais são produtos que têm despertado o interesse de pesquisadores já que apresentam, em sua constituição, compostos com ação antioxidante (JORGE; MALACRIDA, 2008). Muitos estudos demonstram a eficiência dessas plantas frente a diversas doenças, tais como câncer, diabetes, malária e diarreias. Também mostraram eficiências contra bactérias, fungos e vírus (PUGA, 2008).

Sementes de frutas têm fornecido compostos com atividade antioxidante, muitas vezes comparável a de antioxidantes sintéticos. Jorge e Malacrida (2008), por exemplo, observaram que extratos etéreos de sementes de mamão apresentaram atividade antioxidante quando adicionados ao óleo de soja à temperatura de 60 °C.

De acordo com Rashed & Fouche (2013) estudos sobre propriedades biológicas das partes do mamão indicaram que extratos de sementes e compostos isolados mostraram propriedades bacteriostáticas contra *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella*, *Bacillus subtilis* e *Entamoeba histolytica*. Os mesmos autores abordam que em outro estudo foi relatado efeito hiperglicêmico e hipolipidêmico do extrato aquoso de semente de *Carica Papaya*.

Em uma revisão realizada por Krishna; Paridhavi e Patel (2008) sobre as propriedades farmacológicas do mamão papaya, os autores abordaram que a semente e a polpa de *Carica papaya* mostraram atividade bacteriostática contra vários enterepatogenicos como *Bacillus subtilis*, *Enterobacteria cloacae*, *E. coli*, *Salmonella typhi*, *S. aureus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* pelo método de plaqueamento de Ágar em placa. De acordo com os

mesmos autores, as sementes em fases independentes de maturidade do fruto apresentam atividade bacteriostática contra organismos Gram positivo e Gram negativo, que pode ser útil no tratamento de úlceras cutâneas crônicas.

Orhue e Momoh (2013) relatam que as sementes de mamão apresentam atividade antimicrobiana contra *Trichomonas vaginalis* e sugerem que as mesmas podem ser utilizadas em desordens urino genital como a tricomoníase. Entretanto, deve-se ter o cuidado de evitar a toxicidade. Isto porque adicionalmente às suas propriedades antimicrobianas, os cientistas descobriram que o *C. papaya* pode mitigar muitos efeitos colaterais associados aos agentes antimicrobianos sintéticos.

Orhue e Momoh (2013) também relatam que o valor terapêutico das plantas medicinais está relacionado com os constituintes químicos presentes nas mesmas. De fato, os princípios ativos isolados ou em combinação inibem grandemente os processos vitais dos micróbios através da ligação com suas moléculas de proteína, agindo como agentes quelantes (ligação seletiva a íons metálicos polivalentes, de forma que mais tarde estes perdem suas atividades biológicas), alterando seu sistema bioquímico, evitando a utilização de nutrientes disponíveis para os micro-organismos. De acordo com os autores são as substâncias bioativas que conferem resistência as plantas contra bactérias fungos e pragas e que explicam, portanto, a atividade antibacteriana apresentada pelos extratos de diferentes partes do *C. papaya*.

Rosseto (2005) relata que atualmente, muitos estudos têm focalizado o benzilglicosinolato e seu produto de hidrólise, o isotiocianato de benzila (BITC). Estes estudos mostram que em concentrações adequadas de isotiocianatos, assim como o BITC, podem agir no sistema de prevenção do câncer em mamíferos. Outros estudos também reforçam que o BITC é um potente e seletivo inibidor de carcinogênese, atribuindo esse efeito às modificações favoráveis nas enzimas envolvidas no metabolismo de carcinogênicos.

De acordo com Castro, Anjos e Oliveira (2008), “o isotiocianato de benzila, encontrado no mamão, pode agir como um inibidor no desenvolvimento de câncer de pâncreas e também como anti-helmíntico”. Os autores relatam também que este

composto exibe atividade sobre o câncer de pulmão, visto que aumenta a ocorrência de apoptose das células cancerosas.

Rosseto (2005) aborda que além da atividade anticancerígena, o BITC, extraído e purificado a partir de sementes de papaia, apresentou atividade anti-helmíntica nos mamíferos. Esta propriedade também foi relatada por Krishna; Paridhavi e Patel (2008). De acordo com os autores, as sementes de *Carica papaya* secas ao ar e servidas como elixir com mel, forneceram significantes efeitos sobre parasitas intestinais humanos, sem significantes efeitos colaterais. O isotiocianato de benzila (BITC) presente na semente é o principal ou o único composto que apresenta atividade anti-helmíntica.

Krishna; Paridhavi e Patel (2008) relatam também que extratos aquosos de sementes de *Carica papaya* mostraram propriedades abortivas em ratos fêmeas e o extrato alcoólico aquoso e de éter de petróleo inibiu a ovulação em coelhos. Os autores relatam ainda que sementes de *Carica papaya* estão sendo comercializadas atualmente como suplemento nutricional com a capacidade de rejuvenescimento e aumento de energia para o organismo.

5. *Staphylococcus aureus*

Durante a década de 40, os isolados de *Staphylococcus* eram os principais responsáveis pela maioria das infecções hospitalares, principalmente em pacientes com pneumonia (WASHERA, JOFFE, 2006; LEITE, 2008). No ano de 1957 e 1966, mais de 2000 cepas de *Staphylococcus aureus* foram isoladas de hemoculturas na Dinamarca, o que resultou no primeiro estudo epidemiológico relacionado à resistência de *S. aureus* aos antibióticos, publicado em 1969 (JESSEN et al., 1969, CHAMBERS, 2001; LEITE, 2008).

Os micro-organismos *Staphylococcus aureus* são organismos procariontes que se apresenta em forma de cocos e arranjo em cachos irregulares similares aos de uva, o que diferencia esta espécie é a parede celular rica em peptidoglicanos e a produção de enzimas e toxinas (ROSSI, CECCON & KREBS, 2005; CRUVINEL, SILVEIRA, SOARES, 2011). Esse tipo de micro-organismo é capaz de causar desde pequenos furúnculos até sepse grave, sendo a principal bactéria causadora de doenças comunitárias e infecções hospitalares (IARIA, 1981; MUNDIN et al., 2003; CRUVINEL, SILVEIRA, SOARES, 2011).

Segundo Santos *et al.*, 2007 as doenças vão de uma simples infecção (espinhas, furúnculos e celulites) até infecções graves (pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque toxico, septicemia e outras).

Quanto à transmissão de pessoa para pessoa, esta pode ocorrer por contato direto, sendo muito comum no ambiente hospitalar, onde os trabalhadores da área de saúde podem contaminar suas mãos ao prestar assistência a pacientes portador da bactéria ou manusear algum tipo de objetos colonizados e conseqüentemente transmitirem o organismo para outros pacientes. (SALES, SILVA, 2012).

5.1. DESENVOLVIMENTO

As colônias dos *Staphylococcus* apresentam diversas colorações, isto é, elas podem variar desde a coloração branca porcelana até a coloração laranja, quando cultivadas em meio sólido. O pigmento carotenóide formado pode ser visualizado, em meios que contenham amido ou ácido graxo. O tamanho das colônias pode variar de 1 a 3 mm no Agar sangue, após 18 horas. Os estafilococos são considerados como não esporulados mais resistentes. Podem resistir à dessecação; são resistentes ao calor e apresentam alta tolerância aos desinfetantes comuns melhor que a maioria das bactérias (GOMES, 2013).

As cepas de *S. aureus* crescem em meios comuns, caldo ou Ágar simples, pH = 7, a temperatura ótima de 37°C. As colônias formadas em placa, após 18-24 horas de incubação, apresentam-se arredondadas, lisas e brilhantes (Figura 10). A coloração dessas colônias varia desde o acinzentado até o amarelo-ouro, em que a pigmentação aumenta com o tempo de incubação prolongado, não chegando a ser formada nos casos de crescimento em condições anaeróbicas, ou na cultura em caldo. Em placas de Agar sangue, um halo de hemólise desenvolve-se em torno das colônias formadas. (SANTOS *et al.*, 2007).



Figura 10 - Colônia de *Staphylococcus aureus* em meio baird parker agar (In: <http://www.eolabs.com/baird-parker-agar.html>, 2015).

5.2 FORMAS DE RESISTÊNCIA

A resistência do *S. aureus* à penicilina foi detectada logo após o início de seu uso na década de 40. Essa resistência era mediada pela aquisição de genes que codificavam enzimas, inicialmente conhecidas como penicilinases, e agora chamadas β -lactamases. Na década de 1950, a produção de penicilinases pelos *S. aureus* passou a predominar nas cepas isoladas de pacientes hospitalizados. Em 1960, a meticilina foi lançada no mercado como alternativa terapêutica para cepas produtoras de penicilinase, uma vez que essa droga não sofre ação dessa enzima. Porém, já em 1961, relatos de cepas também resistentes à meticilina passaram a ser descritos e foram identificados os denominados *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) (ANVISA, 2007).

Em um hospital-escola da Califórnia – EUA, um estudo demonstrou a presença de 87% de MRSA entre os *S. aureus* isolados de pacientes apresentando infecções dermatológicas atendidos no setor de emergência. Esse estudo defende a drenagem dos abscessos cutâneos como tratamento preferencial, em contrapartida ao uso de antimicrobianos. Existem algumas controvérsias na escolha do tratamento e até mesmo do antimicrobiano para o manejo das infecções de pele causadas por *S. aureus*. De acordo com as pesquisas, as cefalosporinas estão entre aqueles com maiores índices de utilização (GELATTI, 2009).

6. *Escherichia coli*.

O micro-organismo *E. coli* foi isolado pela primeira vez em 1885 pelo pediatra alemão Theodore Escherich, que denominou como bactérias Coli Comune para indicar sua ocorrência universal no intestino de indivíduos saudáveis. A quase um século, a *E. coli* tem sido estudada de uma forma que é atualmente estilo de vida livre mais completamente compreendida na terra (FERRAN et al., 2003).

O micro-organismo *Escherichia coli* encontra-se dispersa na natureza, tendo como habitat principal o trato intestinal de animais de sangue quente, integrando as bactérias do grupo coliforme, subdividindo-se em vários biótipos e sorotipos, alguns dos quais patogênicos em potencial para o homem constituindo-se os alimentos e a água suas principais fontes de infecção. A *Escherichia coli* é citada como indicador de contaminação fecal, mormente em alimentos, pela facilidade de sua comprovação diagnóstica e por sua representatividade (FRAZIER; WESTHOFF, 1993; WIEST et al., 2009).

E.coli (figura 11) é uma bactéria Gram negativa da família *Enterobacteriaceae*, não esporulada, anaeróbica facultativa, fermentativa, em sua maioria móvel (possui flagelo) e são encontradas em mamíferos e aves. Crescem em temperaturas de 18 a 44°C sendo 37°C é a temperatura ideal (ALMEIDA, 2013).



Figura 11 – Micrografia da bactéria *Escherichia coli* (In: Martins, 2010, p.41)

Os alimentos de origem bovina, tendo sido a carne moída, cru ou mal passada, implicada em quase todos os surtos documentados dessa bactéria. A carne pode ser contaminada durante o abate ou processamento inadequado, quando as bactérias intestinais contaminam a carcaça ou quando a carne é moída. A ingestão de leite cru também tem sido associada a surtos, através da contaminação do úbere das vacas ou dos equipamentos de ordenha com conteúdo fecal. A transmissão pessoa-pessoa também é relatada, que detecta simultaneamente duas ou mais sequências de DNA, tem sido utilizada na detecção de *E. coli* (Hu et al., 1999; Bottero et al., 2004; Macedo et al., 2007; GARCIA et al., 2008) e constitui uma alternativa importante na detecção desse patógeno em leite e derivados (GARCIA et al., 2008).

As cepas de *E. coli* podem ser divididas de acordo com as doenças provocadas, no qual são divididas em seis categorias diferentes, baseados de acordo com a virulência e os mecanismos que presumivelmente, através da via oral-fecal, se os hábitos de higiene ou lavagem de mãos não forem adequados. (MITTELSTAEDT & CARVALHO, 2006).

Existem muitos estudos sobre a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), entretanto é um grande avanço no diagnóstico molecular de micro-organismos patogênicos. Segundo as pesquisas, a PCR multiplex, técnica podem provocar a doença (AYALA, 2009; GODINHO, 2012). Estão divididas da seguinte maneira: *E. coli* enteropatogénicas (EPEC), *E. coli* enteroemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa, *E. coli* enterotoxigenica (ETEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC) e *E. coli* que podem causar infecções extra-intestinais (ExPEC) (TRABULSI & ALTERTHUM, 2005; GODINHO, 2012).

Segundo Alves, 2012, o micro-organismo *E. coli*, pode ser definido da seguinte forma:

- ***E.coli* enterotoxigénica:** Causam diarreia aguda em humanos e em animais e é responsável pela alta mortalidade de crianças em países ainda em desenvolvimento, a infecção dessa bactéria ocorre por ingestão de alimentos ou água contaminada, que chegam aos aparelhos digestivos onde se colonizam produzindo enterotoxinas responsável pela diarreia, chamada de diarreia do viajante. (MARTINS, 2010) Febre baixa, cólicas abdominais,

náuseas e fadiga são outros sintomas, que podem durar de três a dezenove dias.

- ***E. coli* enteroinvasiva:** quando células dessa estirpe são fagocitadas por um enterócito (célula da mucosa do intestino), elas se multiplicam e invadem outros enterócitos, levando a morte das células. Os sintomas apresentados são: arrepios, febre, fezes com sangue e dores abdominais e de cabeça. O quadro sintomático pode iniciar de 8 a 24 horas após o consumo de alimento contaminado e pode durar alguns dias ou até semanas.
- ***E. coli* enteropatogênica:** está associada à diarreia de recém-nascidos e em países em desenvolvimento. Esse grupo de *E. coli* recebe geralmente o nome de *E. coli* enteropatogênica clássica, por ser uma das primeiras *E. coli* implicadas em diarreia. (MARTINS, 2010) Esta bactéria causa lesões nas microvilosidades intestinais, levando à uma diarreia aquosa e dificulta a absorção de nutrientes. Outros sintomas são febre, arrepios, dores abdominais, vômito e náuseas.
- ***E. coli* enterohemorrágica:** a toxina produzida por essas estirpes causa a morte de células do intestino grosso, produzindo diarreias sanguinolentas. O período de incubação é de 3 a 9 dias e apresenta outros sintomas, como vômito e cólicas. Cerca de 5 a 10% dos indivíduos afetados por essas estirpes desenvolvem o Síndrome Hemolítico-Urémico e a Púrpura Trombocitopênica Trombótica, doenças que causam insuficiência renal aguda e fenômenos de trombose, respectivamente.

O tratamento de infecções por *E. coli* é feito basicamente pela reposição de líquidos. O uso de antibacterianos é recomendado somente em casos graves, porém, a antibioterapia não é recomendada para casos de *E. coli* enterohemorrágica. Boas práticas de produção e manipulação de alimentos evitam a contaminação por *E. coli*, assim como evitar o consumo de carnes mal cozidas e água não tratada. (ALVES, 2012) A figura 12 mostra o ciclo de transmissão.

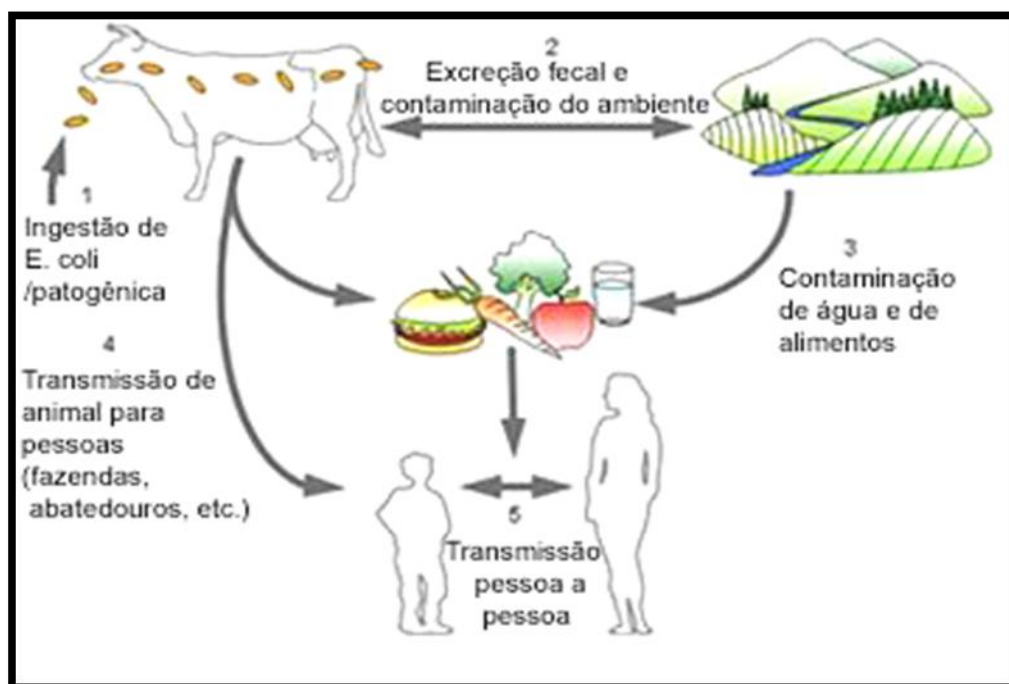


Figura 12 - Ciclo de transmissão da *E. coli*. (In: ALVES, 2012, p.29)

7. PREPARAÇÃO DO EXTRATO DA SEMENTE DE *C. papaya*: UMA ALTERNATIVA PARA O ENSINO DE POLARIDADE E FUNÇÕES ORGÂNICAS

É comum encontrar em todo tipo de escolas, tanto públicas quanto particulares, alunos que não se interessam pela disciplina de química. Isso se deve ao fato de ainda ser utilizados materiais e métodos automáticos, os quais segundo Cavalcanti e colaboradores. (2010), “não permitem uma ponte entre o conhecimento escolar e o mundo cotidiano dos estudantes”.

A experimentação é uma estratégia usada que desperta um forte interesse entre todos os tipos de alunos, e este fato é de conhecimento dos professores. Através de depoimentos de alunos, é possível destacar alguns atributos dados por eles em relação à experimentação, como um caráter motivador, lúdico, essencialmente vinculado aos sentidos. Professores também afirmam que a experimentação pode aumentar a capacidade de aprendizado do aluno, pois o aluno pode se envolver mais com o tema que está em pauta (GIORDAN, 1999).

No ensino tradicional o aluno é tratado como mero ouvinte das informações que o professor está expondo naquele momento. Os conhecimentos que ele adquiri previamente ao longo de sua vida, geralmente não estão relacionados com as informações expostas pelos professores. E sendo assim, a aprendizagem não é significativa (GUIMARÃES, 2009).

Para promover o aprendizado aproveitando o conhecimento prévio do aluno, pode-se iniciar um estudo sobre o mamão papaia, despertando neles o que eles conhecem sobre a fruta. Depois é possível relacionar a fruta e seus benefícios com a saúde, apresentando a estrutura do β -caroteno e discutir que o mesmo responsável pela atividade antioxidante da polpa da fruta e que a polpa é utilizada para “problemas estomacais”. Um estudo feito por Krishna; Paridhavi e Patel (2008) diz que as sementes em fases independentes de maturidade do fruto apresentam atividade anti bacteriana contra organismos Gram positivo e negativo, que pode ser muito útil no tratamento de úlceras cutâneas crônicas. A partir daí esclarecer que

outras partes da planta também possuem componentes que apresentam atividade biológica, inclusive a semente. A partir daí é possível apresentar os componentes químicos presentes na semente (figura 6) – página 22- e (figura 9) – página 24- e apresentar as funções orgânicas presentes nestes compostos.

Com base no experimento realizado neste trabalho, ou seja, a atividade antimicrobiana de extratos de semente do mamão é possível abordar o porquê da preparação de extratos de diferentes polaridades. Justificar que na semente estão presentes compostos que são apolares e outros que são polares. A partir daí abordar o tema polaridade das moléculas e discutir a regra geral de solubilidade: “semelhante dissolve semelhante”.

Esta abordagem, com exemplos que envolvem o cotidiano do aluno, promove maior envolvimento dos alunos e como consequência, maior aprendizado sobre o conteúdo abordado.

8. MATERIAIS E MÉTODOS

8.1 MATERIAIS

8.1.1 Equipamentos

- Estufa bacteriológica MA32 (MARCONI);
- Capela para plaqueamento (fluxo laminar) - TROX;
- Auto-Clave Vertical (PHOENIX);
- Balança semi-analitica (Radwag WTB 300);
- Agitador Magnético (Tecnal TE – 085)
- Liquidificador

8.1.2 Materiais

- | | |
|----------------------|--------------------------------|
| • Placa de petri; | • Papel de filtro whatman nº1; |
| • Pinça; | • Tubo de ensaio; |
| • Pipeta 1 mL; | • Pipetador automático; |
| • Erlenmayer; | • Alça de Drigaslk; |
| • Becker de 1000 mL; | • Proveta de 500 mL; |
| • Alça de platina | • Bico de Bunsen |

8.1.3 Reagentes

- Éter de petróleo (Dinâmica);
- Alcool etílico absoluto (Dinâmica);
- Agar Brain Heart Infusion (Acumedia);
- Agar EMB (eosina azul de metileno) (Himedia);
- Água estéril;
- Água destilada;

8.1.4 Sementes do mamão

Foram extraídas as sementes de cinco mamões papaia comprados em supermercados na região de Assis

8.2 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

8.2.1 Preparo e secagem das sementes do mamão

As sementes foram lavadas com água de torneira e enxaguadas com água destilada estéril. As sementes lavadas (figura 14) foram então secas em uma estufa de ar forçado a 40 °C, por um período de 48 horas. Depois de secas elas foram trituradas em um liquidificador devidamente esterelizado e o pó obtido foi guardado em um recipiente de plástico para ser utilizado para a preparação dos extratos de Éter de petróleo e de Etanol.



Figura 14 - Sementes lavadas

8.2.2 Preparo do Extrato de éter de petróleo

Em um erlenmeyer de 150 mL foram pesados 5g do pó obtido e adicionado 95 mL de éter de petróleo. Em seguida a mistura foi agitada por 24 horas em um no agitador magnético (Figura 14)



Figura 15 - Preparo do extrato de éter de petróleo.

O extrato foi filtrado assepticamente para um frasco de 100 mL, usando papel Whatman nº 1. Em seguida os extratos foram concentrados a 1/3 do volume inicial.

8.2.3 Preparo do extrato de etanol

O mesmo procedimento foi feito para obter o extrato etanólico (Figura 16). Ambos os extratos foram filtrados em membrana 0,45 µm para esterilizar e concentrado a 1/3 do volume inicial.



Figura 16 - Preparo do extrato etanólico

8.2.4 Preparo do inóculo

A cultura de *Staphylococcus aureus* foi inoculada em BHI (brain heart infusion) e a cultura de *Escherichia coli* foi inoculada em TSB (Trypticase soy broth). Após 24 horas de incubação a 37 °C procedeu-se a diluição até a obtenção de uma suspensão padronizada pelo grau 0,5 da escala de McFarland (10^8 micro-organismos m.L⁻¹).

8.2.5 Preparo dos meios

Os meios BHI e EMB foram preparados conforme instruções da embalagem. Em seguida foram autoclavados a 121 °C por 15 minutos e distribuíu-se em placas.

8.2.6 Plaqueamento

O procedimento foi realizado dentro da capela de fluxo laminar e todos os materiais utilizados foram previamente esterilizados na autoclave.

8.2.6.1 Superfície

Com uma pipeta graduada foi adicionado 0,1 mL da bactéria *S. aureus* na superfície da placa contendo o meio BHI solidificado e 0,1 mL da bactéria *E. Coli* na superfície da placa contendo meio EMB solidificado e com uma alça de Drigaski, previamente flambada, foram espalhadas nas placas.

8.2.6.2 Profundidade

Com uma pipeta automática foi adicionado na placa 1 mL da bactéria *S. aureus* e colocado o meio BHI por cima, sendo em seguida homogeneizado. Da mesma forma foi adicionado 1 mL da bactéria *E. Coli* e colocado o meio EMB por cima e homogeneizado. Esperou-se então, a solidificação.

8.2.7 Antibiograma

A atividade antibacteriana do extrato de etanol, do extrato de éter de petróleo, dos solventes foi realizada pelo método de difusão de disco (MDD). As bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* foram cedidas pelo centro de pesquisa em ciências (CEPECI) da Fundação Educacional do Município de Assis (FEMA).

O procedimento foi realizado dentro da capela de fluxo laminar e todos os materiais utilizados foram previamente esterilizados na autoclave.

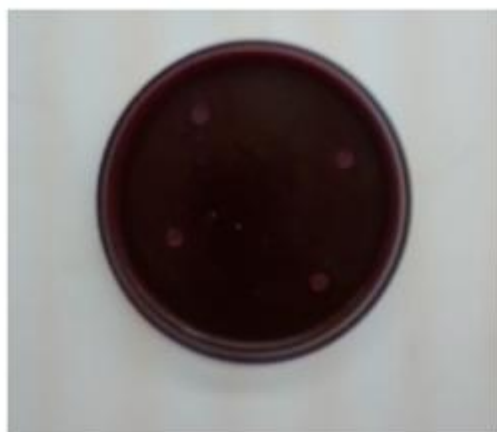
Com as placas já preparadas, os discos de papel de filtro Whatman nº 1, com 6 mm de diâmetro, foram impregnados individualmente com 60 µL de extrato de éter de petróleo e extrato de etanol e 60 µL dos solventes, sendo colocados em cada placa com o auxílio de uma pinça. O teste foi feito em duplicata. Em seguida as placas foram incubadas a 37° C por 24 horas.

9. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos 2 extratos de semente de mamão, o de éter de petróleo e o etanólico, os quais foram obtidos seguindo a metodologia de Orhue e Momoh (2013).

No teste de antibiograma realizado foi constatado que os extratos de sementes de mamão, tanto de éter de petróleo quanto o etanólico, nas concentrações utilizadas, não apresentaram atividade antibacteriana contra as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, visto que nenhum halo foi diagnosticado nas placas.

A figura 16 mostra o crescimento da bactéria *E. coli* em meio EMB com discos de papel impregnados com 60 µL de extrato etanólico e extrato de éter de petróleo, respectivamente. Para verificar se os solventes apresentariam alguma atividade antibacteriana, foi utilizado discos de papel impregnado com álcool etílico absoluto e éter de petróleo, respectivamente. Foram utilizadas a técnicas de superfície (A) e de profundidade (B). Em ambos os testes não houve formação de halos de inibição.



A)



B)

Figura 17 - Crescimento da bactéria *E. coli*: A) em superfície e B) em profundidade; disco impregnado com extrato etanólico (sup. esquerda), disco impregnado com etanol (sup. direita), disco impregnado com extrato de éter de petróleo (inf. Esquerda) e disco impregnado com éter de petróleo (inf. direita).

A figura 18 mostra o crescimento da bactéria *S. aureus* em meio BHI com discos de papel impregnados com 60 µL de extrato etanólico e extrato de éter de petróleo, respectivamente. Para verificar se os solventes apresentariam alguma atividade antibacteriana, foi utilizado discos de papel impregnado com álcool etílico absoluto e éter de petróleo, respectivamente. Foram utilizadas a técnicas de superfície (A) e de profundidade (B). Em ambos os testes não houve formação de halos de inibição.

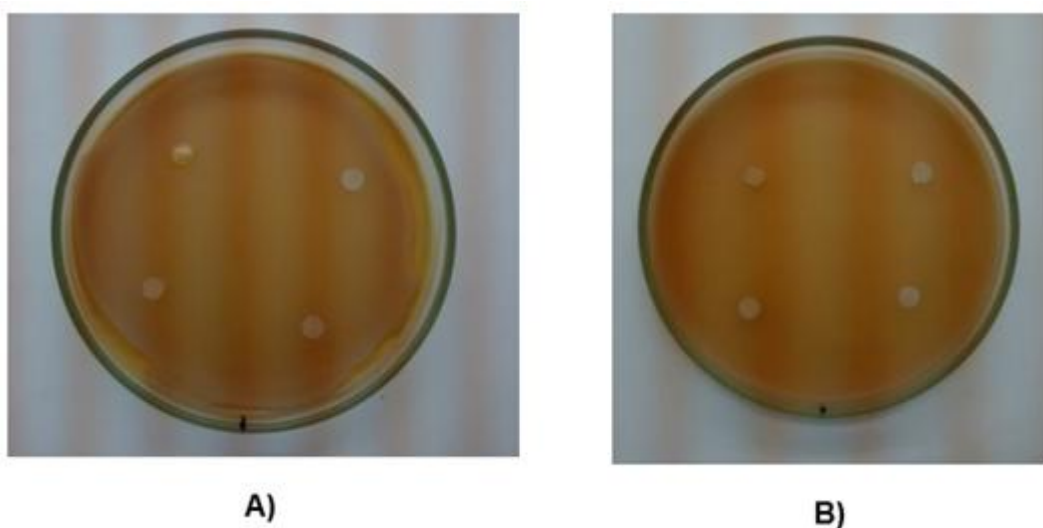


Figura 138 - Crescimento da bactéria *S. aureus*: A) em superfície e B) em profundidade; disco impregnado com extrato etanólico (sup. esquerda), disco impregnado com etanol (sup. direita), disco impregnado com extrato de éter de petróleo (inf. esquerda) e disco impregnado com éter de petróleo (inf. direita).

Orhue e Momoh (2013) observaram que o potencial de atividade antibacteriana do *C. papaya* depende do solvente extrator utilizado. Em solventes orgânicos como o éter de petróleo, o extrato das sementes de *C. papaya* se mostrou ser mais eficiente do que em solventes aquosos, como a água. Os autores atribuíram este fato a maior solubilidade dos componentes ativos em solventes orgânicos. Dos extratos estudados, o de éter de petróleo foi o mais ativo com uma concentração mínima inibitória de 2 mg/mL.

Nayak et al. (2012) também descrevem a atividade antimicrobiana contra *S. aureus*, *E. coli* e *K. pneumoniae*. Eke, Augustine e Ibraim (2014) também descrevem atividade antibacteriana do extrato etanólico de sementes de *C. papaya* contra *E. coli*, *Bacillus cerus* e *P. aeruginosa*.

Desta forma, a falta de atividade apresentada pelos extratos estudados pode ser atribuída as concentrações dos extratos obtidos, os quais devem estar abaixo da concentração mínima inibitória (CMI), sendo necessária maior massa de sementes secas em pó no preparo dos extratos.

10. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicam que as bactérias *S. aureus* e *E. coli* não se mostraram sensíveis frente a concentração dos extratos utilizados, visto que não houve formação de halos de inibição.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. M. S. **Características biológicas e antigênicas de *Escherichia coli* com ênfase aos genes de virulência**. Programa de pós-graduação em ciência animal. Universidade federal de Goiás, Goiânia , 2013.

ALVES, A. R. F. **Doenças alimentares de origem bacteriana**. 2012, 73p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2012.

ALVES, A. R. F. **Doenças alimentares de origem bacteriana**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). 2012, 73p. Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2012.

ANVISA, **Resistência microbiana – mecanismo e impacto químico**. Disponível em http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/mecanismos.htm. Acesso em: 14 de Jul. de 2015.

AYALA, C.O. **Sorologia de antígenos flagelados de amostras de *Escherichia coli* Enteropatogênicas (EPEC) e *E. coli* produtoras da Toxina de Shiga (STEC) isoladas de diferentes animais e análise comparativa do gene de *fliC* por PCR-RFLP**. 2009. 62p. Tese (doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2009.

BOTTERO, M.T.; DALMASSO, A.; SOGLIA, D. Development of a multiplex PCR assay for the identification of pathogenic genes of *Escherichia coli* in milk and milk products. **Mol. Cell. Probes**, v.18, 2004, p.283-288.

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária - SDR - FRUPEX. **Mamão para exportação: Aspectos Técnicos da Produção**. EMBRAPA, Brasília - DF, 52p. 1994.

CASTRO, I.M.; ANJOS, M.R.; OLIVEIRA, E.S. Determinação de isotiocianato de benzila em *Carica papaya* utilizando cromatografia gasosa com detectores seletivos. **Química Nova**. v. 31, nº. 8, 1953-59, 2008.

CAVALCANTI, Jaciene Alves; FREITAS, Juliano Carlo Rufino de; MELO, Adriana Cristina Nascimento de; FILHO, João R. de Freitas. Agrotóxicos: Uma Temática para o Ensino de Química, **Química Nova na Escola**, v. 32, nº 1, fevereiro, 2010, p. 31-36.

CHAMBERS, H. F. The Changing Epidemiology of *Staphylococcus aureus*. **Emerging infectious Diseases**, v.7, nº.2, mar./abr, 2001, p.178-182.

CRUVINEL, A,R; SILVEIRA, A,R; SOARES, J.S. Perfil antimicrobiano de *Staphylococcus aureus* isolado de pacientes hospitalizados em UTI no distrito federal. **Cenarium Farmacêutico**, nº 4, Maio./Nov, 2011, p. 1-11.

EKE, O. N.; AUGUSTINE, A. U.; IBRAHIM, H. F. Qualitative analysis of phytochemicals and antibacterial screening of extracts of *Carica papaya* fruits and seeds. **International Journal of Modern Chemistry**, v. 6, nº 1, 2014, p. 48-56,

FENNEMA, O. R., DAMODARAN, S., PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 4^a ed, 2010.

FERRAN, R.F.F.; PEREZ, C.R.P.; RIBALTA, I.A.R.; MARTINEZ, F.G.M. Escherichia coli como uma causa de diarreia infantil. **Cuban Journal of Pediatrics**, v.75 nº.3, Jul./Set. 2003.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiologia de los alimentos**. Zaragoza: Acirbia, 1993.

GARCIA, P.M; ARCURI, E.F; BRITO, M.A.V.P; LANGE, C.C.; BRITO, J.R.F.; CERQUEIRA, M.M.O.P. Detecção de *Escherichia coli* O157:H7 inoculada experimentalmente em amostras de leite cru por método convencional e PCR multiplex. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v.60, nº.5, 2008, p.1241-1249.

GELATTI, L.C.; BONAMIGO, R.R.; BECKER, A.P.; AZEVEDO, P.A. ***Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade**. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/abd/v84n5/v84n05a09.pdf>>. Acesso em: 25 jul. 2015.

GIORDAN, MARCELO. O papel da Experimentação no ensino de ciências. **Química Nova na Escola**, nº. 10, novembro, 1999, p.43-49.

GODINHO, G.C. **Atividade antibacteriana do óleo essencial do manjeriço**. 2012. 78p. Graduação – (Trabalho de conclusão de curso) - Fundação Educacional do Município de Assis, Assis –Sp, 2012.

GOMES, M.J.P. **Gênero *Staphylococcus aureus***. Disponível em: < <http://www.ufrgs.br/labacvet/files/G%C3%AAnero%20Staphylococcus%20spp%204-2013-1.pdf>>. Acesso em: 25 jul. 2015.

GONÇALVES, Bruna Ribeiro, **Atividade Antimicrobiana de Extratos Brutos de *Alternanthera brasiliana***. 2010, 46p. Graduação – (Trabalho de conclusão de curso) - Fundação Educacional do Município de Assis, Assis –Sp, 2010.

GUIMARÃES, Cleidson Carneiro. Experimentação no Ensino de Química: Caminhos e descaminhos rumo à aprendizagem significativa. **Química Nova na Escola**, v. 31, nº. 3, agosto, 2009, p.198-202.

HU, Y.; ZHANG, Q.; MEITZLER, J.C. Rapid and sensitive detection of *Escherichia coli* O157:H7 in bovine faeces by a multiplex PCR. **J. Appl. Microbiol**, v.87, 1999, p. 867-876.

IARIA, S.T. *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico em doces cremosos vendidos em padarias e confeitarias do município de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 15, nº. 3, jun. 1981.

JESSEN, O.; ROSENDAL, K.; BULOW, P.; FABER, V.; ERIKSEN, K. R. Changing Staphylococci and staphylococcal infections: A ten-year study of bacteria and cases of bacteremia. **New England Journal of Medicine**, v. 281, nº.12, set. 1969, p. 627-635.

JORGE, N.; MALACRIDA, C. R. Extratos de sementes de mamão (*Carica papaya* L.) Como fonte de antioxidantes naturais. **Alimentos e nutrição**, Araraquara, V. 19, nº. 3, 2008, p. 337-340.

KAISER, C., ALLAN, P., WHITE, B.J., DEHRMANN, F.M. Some morphological and physiological aspects of freckle on papaya (*Carica papaya* L.) fruit. **Journal of South Africa Society Horticulture Science**. Scottsville, v. 6, 1996, p. :37- 41.

KRISHNA, K.L.; PARIDHAVI, M.; PATEL, J.A. Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of Papaya (*Carica papaya* Linn.). **Natural Product Radiance**, V. 7, nº4, 2008. p. 364-73.

LEITE, G.B. **Análise de portadores assintomáticos de *Staphylococcus aureus* no Hospital Universitário de Brasília**. 2008. 100p. Dissertação (mestrado) - Pós-Graduação em Patologia Molecular - Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

LOUREDO, P.; **Características da bactéria *Staphylococcus aureus***. Disponível em: <<http://www.brasilescola.com/biologia/staphylococcus-aureus.htm>>. Acesso em: 15 de Jul. de 2015.

MACÊDO, N.R.; MENEZES, C.P.L.; LAGE, A.P. Detecção de cepas patogênicas pela PCR multiplex e avaliação da sensibilidade a antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas de leitões diarreicos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v.59, 2007, p.1117-1123.

MAIA, J. T. L. S. **Cultivo de Plantas Medicinais e Aromáticas em Consorcio com Hortaliças**. 75p. 2007. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Fitotecnia – Universidade Federal de Minas Gerais. Montes Claros, 2007.

MALACRIDA, C. R.; JORGE, N. Extratos de sementes de mamão (*carica papaya* L.) como fonte de antioxidantes naturais. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.19, n.3, p. 337-340, jul./set. 2008

MARTINS, A.G.L.A. **Atividade antibacteriana dos óleos do manjeriço (*Ocimum basilicum* Linnaeus) e do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) frente a linhagens de *Escherichia coli* enteropatogênicas isoladas de hortaliças**. 2010. 179p. Tese (doutorado) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, 2010

MITTELSTAEDT, S.; CARVALHO, V.M. *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) 0157:H7. **Revista Instituto Ciências Saúde**, v. 24, nº 3, 2006, p. 175-82.

MUNDIM, S.J.S. et al. Frequência de *Giardia spp* por duas técnicas de diagnóstico em fezes de cães. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, nº.6, 2003, p.770- 773.

NAYAK, BS, RAMDEEN, R, ADOGWA A, RAMSUBHAG A, MARSHALL JR. Wound-healing potential of an ethanol extract of *Carica papaya* (Caricaceae) seeds. **Int Wound J** 2012; doi: 10.1111/j.1742-481X.2011.00933.x

OLIVEIRA, A. M.G.; SOUZA, L. F. S.; VAN RAIJ, B.; JESUS, A. F.; BERNARDI, M. A. C. C. **Nutrição, calagem e adubação do mamoeiro irrigado**. Circular Técnica, Embrapa Mandioca e Fruticultura - Cruz das Almas – BA, 2004.

ORHUE, P.O.; MOMOH, A.R.M.; Antibacterial activities of different solvent extracts of carica papaya fruit parts on some gram positive and gram negative organisms. **International journal of herbs and pharmacological research**. IJHPR, v. 2, nº 4, 2013, p. 42 – 47.

PEREIRA, M.G. **Melhoramento genético do mamoeiro (*Carica papaya* L.): desenvolvimento e recomendação de híbridos**. In: Feitosa, C. (ed.) *1 Semana Acadêmica de Horticultura do Espírito Santo*, ano 1 – Nº 1 – Outubro: 61-65. 2003.

PUGA, R. D. **Conexão *in silico* entre Plantas Medicinais e Animais Venenosos**. 78p. 2008. Dissertação (mestrado). USP – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto – SP, 2008.

RASHED, K. N.; FOUICHE, G. Anticancer Activity of *Carica papaya* Extracts *in vitro* and Phytochemical Analysis. **Greener Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 1, nº. 1, 2013, p. 001-005,

RIBEIRO, C. S. .P. **Determinação espectrofotométrica de flavonóides totais presentes nas folhas de arruda (*Ruta graveolens* L)**. 2014 67p. Fundação educacional do municipio de Assis (FEMA). Assis. 2014

RIGOTTI, M. **Cultivo do Mamoeiro**. Disponível em: <<http://portaldahorticultura.xpg.uol.com.br/CulturadoMamoeiro.pdf>>. Acesso em: 21 fev. de 2015.

ROSSETTO, M.R.M. **Teores de benzilglicosinolato, benzilisotiocianato e expressão da mirosinase durante o desenvolvimento e amadurecimento do mamão papaia (*Carica papaya* L., var. Sunrise Solo)**. 133p. Tese para doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo. 2005.

ROSSI, F.S.; CECCON, M.E.J.R.; KREBS, V.L. Infecções Estafilocócicas Adquiridas nas Unidades de Terapia Intensiva Neonatais. **Pediatria**, v. 27, nº. 1, 2005, p. 38-47.

SALES, L. M.; SILVA, T. M.; **Staphylococcus aureus** meticilina resistente: um desafio para a saúde pública. *Acta Biomedica Brasiliensia*. V. 3, nº 1, 2012, p 1 – 13.

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O; FREITAS C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, L. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C; **Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importancia hospitalar**. *J Bras Patol Med Lab*. v. 43, nº. 6, 2007,. p. 413-423.

SILVA, G. G.; DINIZ, R. G.; SILVA M. E. Avaliação química do mamão papaia (carica papaya L.) em diferentes estádios de maturação. **Revista Capixaba de Ciência e Tecnologia**, Vitória, nº. 3, 2007, 2º sem, p.1-7.

SOUZA, S. M. S.; Mamão no Brasil: distribuição regional da produção e comportamento dos preços no período 1996-2005. **Informações Econômicas**, SP, v.37, nº. 9, set. 2007.

SOUZA, J.S. In: **Frutas do Brasil, Mamão Produção (Aspectos Técnicos)**. Ministério da Agricultura e do Abastecimento – EBRAPA, Brasília – DF, 2000.

TRABULSI, L.R; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4ª edição. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

TRINDADE, A. V. **Mamão, produção e aspectos técnicos**. Empresa brasileira de pesquisa agropecuária (EMBRAPA). Cruz das almas – BA, 77p. 2000.

VENTURINI, T.; BENCHIMOL, L. R.; BERTUOL, D. A.; ROSA, M. B.; MEILI, L. Estudo da secagem e extração de sementes de mamão (*carica papaya L.*). **Revista**

eletrônica em gestão, educação e tecnologia ambiental reget/ufsm, v. 5, nº 5, 2012, p. 950–959.

WASHERA, P.; JOFFE, H.; The “hospital superbug”: Social representations of MRSA. **Social Science & Medicine**. v. 63, Issue 8, October 2006, p. 2141–2152.

WUEST, J.M; CARVALHO, H.H.C.; AVANCINI, C.A.M.; GONÇALVES, A.R. Inibição e inativação de *Escherichia coli* por extratos de plantas com indicativo etnográfico medicinal ou condimentar. **Ciênc. Technol. Aliment**, jul./set, 2009, p.474-480