



ANAIS da VII Semana Científica da
UPIS - 2024
XX SIMCIAGRI V SIMVET ON-LINE

Potencial efeito antimicrobiano do óleo de coco Babaçu, Bahia e Macaúba frente a bactérias isoladas de animais domésticos – estudo in vitro

*Potential antimicrobial effect of Babaçu, Bahia and Macaúba coconut oil
against bacteria isolated from domestic animals – in vitro study*

Jéssica Cristina Almeida ELIDIO¹, Juliana Costa PIRES¹, Gabriela Simão de Sá
FERREIRA¹, Iza Saraiva de Andrade HOLANDA¹, Ivaloo Leite da COSTA¹, Adriana
Moraes da SILVA², Andrea Maria LAZZARI^{2*}.

¹ Médica Veterinária. ² Prof^a. Dr^a Médica Veterinária – Faculdades Integradas – UPIS
lazzariandreamaria@gmail.com

RESUMO

O presente resumo científico avalia o efeito antimicrobiano, *in vitro*, do óleo de coco Babaçu, Bahia e Macaúba®, sobre bactérias Gram positivas e Gram negativas de importância veterinária. Ainda, verifica sua toxicidade frente às células do tipo MDBK. Os resultados revelam a ausência de efeito antimicrobiano do óleo de coco Babaçu e efeito antimicrobiano para os demais óleos, Bahia e Macaúba, revelando atividade biológica contra bactérias. Houve a detecção de ação citopática em células com o óleo de coco Macaúba®, e ausência de ação tóxica para os demais.

PALAVRAS CHAVE: fitoterápicos; infecções; terapêutica; veterinária.

ABSTRACT

This scientific summary evaluates the *in vitro* antimicrobial effect of Babaçu, Bahia and Macaúba® coconut oil on Gram positive and Gram negative bacteria of veterinary importance. Furthermore, its toxicity against MDBK cells is verified. The results reveal the absence of antimicrobial effect of Babaçu coconut oil and antimicrobial effect for the other oils, Bahia and Macaúba, revealing biological activity against bacteria. There was the detection of cytopathic action in cells with Macaúba coconut oil, and absence of toxic action for the others

KEYWORDS: herbal medicines, infections, therapeutics, veterinary.

INTRODUÇÃO

A utilização de antimicrobianos gerou otimismo em relação ao tratamento de infecções, porém, seu uso excessivo trouxe algumas dificuldades, como a progressiva



ANAIS da VII Semana Científica da
UPIS - 2024
XX SIMCIAGRI V SIMVET ON-LINE

Potencial efeito antimicrobiano do óleo de coco Babaçu, Bahia e Macaúba frente a bactérias isoladas de animais domésticos – estudo in vitro

Potential antimicrobial effect of Babaçu, Bahia and Macaúba coconut oil against bacteria isolated from domestic animals – in vitro study

resistência (1). O Brasil possui muitas plantas medicinais utilizadas pela população com boa aceitação. Segundo a OMS, 80% da população faz uso, contudo muitas não possuem eficácia comprovada (2). Estudos são realizados na tentativa de verificar a eficiência como fitoterápicos para humanos e animais (3, 4) e sua citotoxicidade *in vitro* em microplacas com cultivo celular (5, 6), que permite a identificação, em um mesmo ambiente, de diferentes diluições com a presença de controle negativo (7).

No presente estudo buscou-se investigar o potencial antimicrobiano dos óleos de coco Babaçu (*Orbignya phalerata*), coco da Bahia (*Cocos nucifera*) e coco Macaúba (*Acrocomia aculeata*) e sua toxicidade *in vitro* em cultivo celular. A avaliação do efeito antimicrobiano dos óleos de coco foi realizada no Laboratório de Bacteriologia e a avaliação de citotoxicidade no Laboratório de Virologia das Faculdades Integradas - UPIS.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os óleos de coco da Bahia (extração a frio) e Babaçu (extração pelo calor) foram extraídos de maneira artesanal e mantidos sob refrigeração, o de Macaúba®, obtido comercialmente. Foram utilizados micro-organismos isolados de trato urinário, tegumentar e otológico, oriundos de amostras de animais domésticos de Brasília e entorno. Foram selecionadas 99 bactérias, e a técnica utilizada foi a de disco difusão em placa (antibiograma). Em cada placa de ágar *Müller Hinton* foram colocados quatro discos de papel filtro esterilizados®, três embebidos com 20µl de cada óleo em análise e o quarto como controle negativo. Após 48h de incubação, em temperatura de 37°C, as placas foram examinadas para definir o tamanho do diâmetro do halo de inibição (inibição completa do crescimento bacteriano) ou atenuação (colônias satélites dentro do halo), quando presente. A toxicidade foi avaliada em dois ensaios *in vitro*, pela inoculação em células MDBK, em placas de 24 orifícios, cultivadas com MEM (meio essencial mínimo), com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB), incubadas a 37°C em atmosfera de microaerofilia. Foram preparadas



**Potencial efeito antimicrobiano do óleo de coco Babaçu,
Bahia e Macaúba frente a bactérias isoladas de animais
domésticos – estudo in vitro**

*Potential antimicrobial effect of Babaçu, Bahia and Macaúba coconut oil
against bacteria isolated from domestic animals – in vitro study*

três placas (uma para cada óleo) com o cultivo celular e após 24h sendo observada a confluência do tapete celular foram realizadas as inoculações. Para o primeiro ensaio os óleos foram previamente diluídos nas concentrações de 10^{-1} a 10^{-5} em MEM, aplicadas na placa em triplicatas e com um controle negativo para cada óleo. O segundo ensaio foi realizado com a aplicação de óleo puro em 500µL de MEM, direto na placa com as células, e realizada a diluição seriada na razão 1:10 a 1:1.000.000. As placas foram incubadas a 37°C em microaerofilia por 72 horas com avaliação em microscópio óptico invertido em intervalos de 24 horas. Utilizou-se uma análise de Log-Linear, com teste de verossimilhança ($p>0,05$) para analisar a frequência de respostas antimicrobianas ao tipo de óleo, de acordo com o grupo bacteriano (Gram positivos ou Gram negativos).

RESULTADOS

Das 99 bactérias selecionadas, 83 (84%) eram Gram positivas e 16 (16%), Gram negativas. Dentre os Gram positivos e negativos, 14,46% e 12,5%, respectivamente, apresentaram halos de atenuação ou inibição para um dos óleos testados. Observou-se a mesma ($p>0,05$) frequência de Gram + e de Gram – com presença ou ausência de halos. O óleo de coco Babaçu, nas condições desse trabalho, não demonstrou atividade antimicrobiana. Foi observado uma diferença significativa entre as bactérias Gram positivas e as Gram negativas em relação a resposta aos óleos de coco da Bahia e Macaúba® ($p<0,05$). As bactérias Gram positivas que apresentaram halo foram mais sensíveis ao óleo de coco da Bahia (83,33%) do que ao óleo Macaúba® (16,67%), contudo as Gram negativas apresentaram a mesma frequência de resposta para os dois óleos (50%). Os resultados dos testes que apresentaram atenuação ou inibição de crescimento para algum dos óleos utilizados são apresentados na Tabela 1 (Gram positivos) e Tabela 2 (Gram negativos).



Potencial efeito antimicrobiano do óleo de coco Babaçu, Bahia e Macaúba frente a bactérias isoladas de animais domésticos – estudo in vitro

*Potential antimicrobial effect of Babaçu, Bahia and Macaúba coconut oil
against bacteria isolated from domestic animals – in vitro study*

Tabela 1 – Resultado do teste de disco difusão em ágar, para bactérias Gram positivas que apresentaram atenuação para um dos óleos testados.

Micro-organismos	Diâmetro de halos de atenuação		
	Óleo de coco Babaçu (<i>Attalea speciosa</i>)	Óleo de coco da Bahia (<i>Cocos nucifera</i>)	Óleo de coco Macaúba (<i>Acrocomia aculeata</i>)
<i>Staphylococcus coag.</i> +	-	11 mm*	-
<i>S. coagulase</i> +	-	7 mm	-
<i>S. coagulase</i> +	-	8 mm	-
<i>S. coagulase</i> +	-	11 mm	-
<i>S. coagulase</i> +	-	13 mm	-
<i>S. coagulase</i> +	-	11 mm	-
<i>S. coagulase</i> +	-	10 mm	-
<i>Corynebacterium</i> spp.	-	9 mm	-
<i>Actinomyces</i> spp.	-	11 mm	-
<i>Streptococcus</i> spp.	-	5 mm	3 mm
Bacilo Gram positivo	-	-	20 mm

(*) Halo de inibição

Tabela 2 - Resultado do teste de disco difusão em ágar, para bactérias Gram negativas que apresentaram atenuação para um dos óleos testados.

Micro-organismos	Diâmetro de halos de atenuação		
	Óleo de coco Babaçu (<i>Attalea speciosa</i>)	Óleo de coco da Bahia (<i>Cocos nucifera</i>)	Óleo de coco Macaúba (<i>Acrocomia aculeata</i>)
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	20 mm
<i>Proteus mirabilis</i>	-	7 mm	-

Na avaliação de citotoxicidade, no ensaio um, não houve observação de alterações citopáticas nas diluições de 10^{-1} a 10^{-5} em nenhum dos três óleos testados quando comparados com o controle negativo (Figura 1A). No ensaio dois, o óleo de coco Macaúba® provocou alterações citopáticas na diluição 1:10 (Figura 1B), com redução dos efeitos citopáticos na diluição 1:1.000.000 (Figura 1C), sem a observação de lise celular, mas com alteração da sua confluência quando comparada com as células controle.



Potencial efeito antimicrobiano do óleo de coco Babaçu, Bahia e Macaúba frente a bactérias isoladas de animais domésticos – estudo in vitro

*Potential antimicrobial effect of Babaçu, Bahia and Macaúba coconut oil
against bacteria isolated from domestic animals – in vitro study*

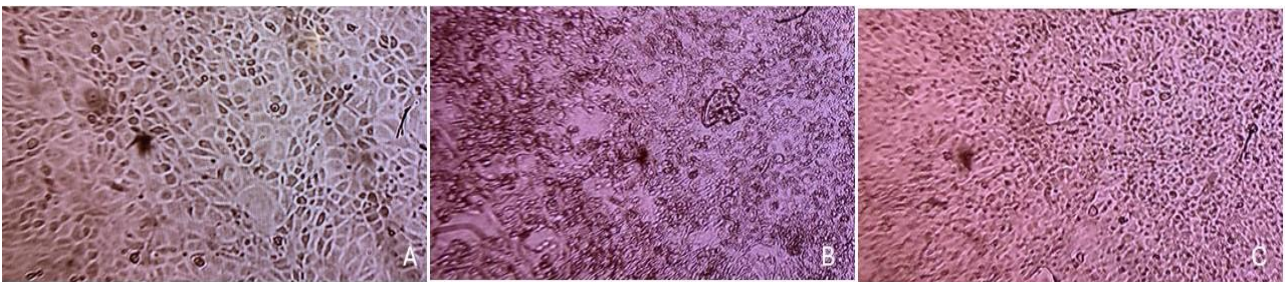


Figura 1 - A) células controle negativo sem alteração. B) Células com óleo coco Macaúba® na diluição 1:10 com intenso efeito citopático. C) Células com óleo coco Macaúba® na diluição 1:1.000.000 com ausência de lise celular e alteração da confluência.

DISCUSSÃO

Pesquisadores descrevem resultados com óleo de coco da Bahia (8, 9). Trabalho relata achado promissor com algumas bactérias, porém não com vários representantes da mesma espécie. Nele, detectou-se halos de inibição em uma cepa de *Staphylococcus aureus*, uma de *S. epidermidis* e uma de *Enterococcus cloacae* (8). Os halos detectados no resumo científico em questão foram basicamente de atenuação, com uma única bactéria sendo inibida totalmente. Segundo a Tabela 1, o óleo de Macaúba®, não apresentou efeito contra os estafilococos, importante agente na clínica veterinária. Artigo relata que o óleo extraído da polpa da Macaúba também não demonstrou efeito sobre *Staphylococcus aureus* e apresentou sobre *Escherichia coli* e *Candida albicans*. Esse resultado foi obtido com uma cepa de cada micro-organismo (10). A avaliação sobre o Babaçu, com extração artesanal pelo calor, mostrou ausência de efeito sobre as bactérias Gram positivas e Gram negativas testadas. Já, através de outro método de extração, via etanol pressurizado, atividade antimicrobiana foi verificada contra *S. aureus* e *Bacillus cereus* (11). A avaliação de toxicidade *in vitro* não evidenciou efeito citopático para o óleo de coco Bahia e Babaçu, no entanto foi evidenciado para o óleo de coco Macaúba®, no ensaio dois. A toxicidade *in*



ANAIS da VII Semana Científica da
UPIS - 2024
XX SIMCIAGRI V SIMVET ON-LINE

Potencial efeito antimicrobiano do óleo de coco Babaçu, Bahia e Macaúba frente a bactérias isoladas de animais domésticos – estudo in vitro

*Potential antimicrobial effect of Babaçu, Bahia and Macaúba coconut oil
against bacteria isolated from domestic animals – in vitro study*

in vitro é comum na avaliação de extratos naturais (5, 6), e ainda, dependendo da concentração e do extrato de óleo, pode ocorrer aumento da proliferação celular (7).

CONCLUSÃO

O presente trabalho demonstra que os óleos de coco Babaçu e Bahia não apresentam citotoxicidade *in vitro* nas diluições testadas e o efeito *in vitro* de toxicidade do óleo Macaúba® não confirma ação tóxica *in vivo*. Efeito antimicrobiano não foi detectado no óleo de coco Babaçu (extração artesanal). Nos óleos de coco da Bahia (extração artesanal) e Macaúba®, o efeito foi detectado em uma parcela de Gram positivos (maior eficácia do óleo de coco da Bahia) e negativos (verossimilhança entre os óleos), e esse efeito foi principalmente o de atenuação. Isso demonstra que esses óleos apresentam atividade biológica contra bactérias. Há necessidade de verificar se outros métodos de extração poderiam melhorar o potencial antimicrobiano bem como se outros métodos de avaliação da ação antimicrobiana poderiam alterar os resultados aqui apresentados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- IOF – INSTITUTO OSWALDO CRUZ. Combate ao uso excessivo de antibióticos: Rio de Janeiro, 2020. Disponível em:< <https://www.ioc.fiocruz.br/noticias/combate-ao-uso-excessivo-de-antibioticos>>. Acesso em 13 de abril de 2024.
- 2 - OMS-ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Bulletin of the World Health Organization: Regulatory situation of herbal medicines-A worldwi- de review. Geneva, 1998. Disponível em:<<https://www.who.int/publications/i/item/WHO-TRM-98.1>>. Acesso em 09 abril 2024.
- 3- VIDAL C. S.; ANGELI R.; VICTÓRIO C. P, Medicamentos fitoterápicos e aplicação veterinária em âmbito nacional. Acta Scientiae et Technicae. Vol 11, 2023: Disponível em:<https://www.researchgate.net/profile/CristianeVictorio/publication/376267169_Medicamentos_fitoterapicos_e_aplicacao_veterinaria_em_ambito_nacional/links/6571e0bbea5f7f02054cd06b/Medicamentos-fitoterapicos-e-aplicacao-veterinaria-em-ambito-nacional.pdf>. Acesso em 13 de abril de 2024.
- 4 - SANTIAGO L. A. N.; PIMENTA R. S.; SILVA J. F. N.; BOMTEMPO, F. V. S, Atividade antimicrobiana dos extratos vegetais no controle de microrganismos de interesse alimentar.



ANAIS da VII Semana Científica da
UPIS - 2024
XX SIMCIAGRI V SIMVET ON-LINE

**Potencial efeito antimicrobiano do óleo de coco Babaçu,
Bahia e Macaúba frente a bactérias isoladas de animais
domésticos – estudo in vitro**

*Potential antimicrobial effect of Babaçu, Bahia and Macaúba coconut oil
against bacteria isolated from domestic animals – in vitro study*

Revista de gestão social e ambiental. 2023: Disponível em:
<<https://doi.org/10.24857/rgsa.v17n8->>. Acesso em 13 de abril de 2024.

5 - NOGUEIRA, E. O.; NOVAES, A. S. M.; SANCHEZ, C. M. S.; Cláudio de Moraes ANDRADE, C. M.; SILVA, M. F. A. Avaliação do efeito do óleo-resina de copaíba (*Copaifera* sp.) na proliferação celular in vitro. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, São Paulo, v. 49, n. 4, p. 293-300, 2012.

6 - FERNANDES, M.H.V.; SILVA, D.S.; CASTRO, C.C.; CORRÊA, R.A.; VARGAS, G. D'Ávila; FISCHER, G; MOTTA, A.S.; HÜBNER, S.O. Avaliação da citotoxicidade do peptídeo antimicrobiano p34. *Science and Animal Health*. v.1 n.1, p. 02-10, 2013.

7. WEYERMANN, J.; LOCHMANN, D.; ZIMMER, A. A practical note on the use of cytotoxicity assays. *International Journal of Pharmaceutics*, Amsterdam, v. 288, p. 369–376, 2005. Disponível em: <https://journals.lww.com/plasreconsurg/abstract/1998/03000/enhanced_proliferation_of_fibroblasts_and.27.aspx>. Acesso em: 18 abril 2024.

8 - ALMEIDA L. C. T.; TENÓRIO L. M. M. C.; VERISSÍMO R. C. S. S.; LÚCIO I. M. L.; BASTOS M. L. A, Potencial Antimicrobiano do Óleo de Coco no Tratamento de Feridas. *Revista da Rede de Enfermagem do Nordeste*. v. 13, n. 4, p. 880-887, 2012.

9 - FIGUEIRA, C. N. T, Avaliação da atividade antimicrobiana, citotóxica e capacidade sequestradora de radicais livres de extratos brutos do Cocos nucifera L. 2012. 120f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem). Escola de Enfermagem e Farmácia. Universidade Federal de Alagoas. Maceió. 2012.

10 - FONSECA, R. S. K.; SOUZA, L. S. S.; PEREIRA, A. M. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo da macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex. Mart). *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v.8, n.4, p. 23945-23962, apr., 2022.

11 – OLIVEIRA, N. A. Caracterização da farinha do mesocarpo e do óleo das amêndoas de babaçu (*Orbignya phalerata*, Mart.) obtidos via extração com fluídos supercrítico e Líquido pressurizado: estudos pré-clínicos e toxicológicos. 2018. 208f. Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.