

Actividade Antibacteriana dos Extractos Hidroetanólico e Aquoso das Folhas de Moringa Oleífera Sobre Escherichia Coli

Antibacterial Activity of Hydroethanolic and Aqueous Extracts of Moringa oleifera Leaves Against Escherichia coli

Autores:

1-Ezequias Zefanias Siteo – ezequias5siteo@gmail.com_+258869681453. Licenciado Em Análises Clínicas e Mestre Em Epidemiologia de Campo e Laboratorial- FELTP- Doutorando em Inovação Educativa. Faculdade de Ciências de Educação e Comunicação-Universidade Católica de Moçambique (FEC-UCM). Av. 25 de Setembro, Número 512, Bairro central, Cidade de Nampula- Moçambique, C.P:681,70100. E-mail: fec@ccm.ac.mz...Telefone :26 215 478.

2-Johnas Michel - johnasmichel540@gmail.com-+258842765361- Licenciado Em Ciências Farmacêuticas (Farmacêutico), FCS-Faculdade de Ciências de Saúde da Unilúrio - Universidade Lúrio...<https://www.unilurio.ac.mz>. ..info@unilurio.ac.mz...Bairro de Marrere, Rua Número 4250, Km 2,3-Nampula...Telefone:+25826218250// 26 218 250.

3- Izaquiel Anselmo- ianselmomaida@gmail.com –+258862272539. Técnico de Laboratório de Análises Clínicas e Licenciado Em Ciências Farmacêuticas (Farmacêutico),FCS-Faculdade de Ciências de Saúde da Unilúrio - Universidade Lúrio...<https://www.unilurio.ac.mz>. ..info@unilurio.ac.mz...Bairro de Marrere, Rua Número 4250, Km 2,3-Nampula. .Telefone:+25826218250// 26 218 250.

Filiação :

1;3 -Hospital Central de Nampula (HCN)-Laboratório Central de Análises Clínicas (LAC) -Sector de Microbiologia-Bacteriologia-hcnampula@gmail.com...Avenida Samora Machel, Número 1061,Telefone : 26 213001, C.P 14.Cidade de Nampula.

2-FCS-Faculdade de Ciências de Saúde da Unilúrio-Universidade Lúrio...<https://www.unilurio.ac.mz>. ..info@unilurio.ac.mz...Bairro de Marrere, Rua Número 4250, Km 2,3-Nampula. .Telefone:+25826218250// 26 218 250.

RESUMO

Moçambique é um país altamente prevalente de doenças diarreicas e infecções do tracto urinário,nos últimos anos regista-se elevada taxa de microrganismos resistentes aos antibióticos a nível do mundo. Para combater esta problemática, as plantas medicinais têm sido estudadas de modo a propôr a produção de novos fármacos, A *Moringa oleífera* Lamarck é uma planta da família das Moringaceae. Neste contexto realizou-se o este

trabalho com objectivo de analisar a composição fitoquímica e actividade antibacteriana *in vitro* dos extractos hidroetanólico e aquoso das folhas de *Moringa* sobre *Escherichia coli*. As folhas de *Moringa oleífera* foram colhidas no bairro de Marrere, no período das 7 as 9 horas e lavadas, secadas à temperatura ambiente durante 15 dias e depois trituradas obtendo droga vegetal, onde foi macerada por 7 dias, filtrado secado na estufa, posteriormente foi feita análise fitoquímica para identificação qualitativa dos metabolitos secundários no laboratório de Etnobotanica e Fitoquimica. A análise da actividade antibacteriana foi realizada no Laboratório Central de Análises Clínicas (LAC), do Hospital Central de Nampula (HCN), no Sector de Microbiologia, pelo método de disco de difusão (Kirby-Bauer) em ágar Muller Hinton, a pesquisa é básica, explicativa, de experimento-laboratorial e abordagem quali-quantitativa. Para análise de dados foi usado Statistical Package for the Social Science versão (SPSS) 20. Os resultados estão apresentados em tabelas e na análise fitoquímica evidenciou-se a presença de flavonóides, fenóis e taninos no extracto aquoso e flavonóides ausente no extracto hidroetanólico, enquanto que florotanino foram ausentes em ambos os extractos, na análise de actividade antibacteriana o extracto hidroetanólico não mostrou halo de inibição, enquanto que o aquoso teve halo de inibição da concentração inicial de $14 \pm 0,67\text{mm}$, segunda concentração foi de $12 \pm 1,11\text{mm}$ e terceira concentração de $10 \pm 1,33\text{mm}$. O extracto hidroetanólico não mostrou actividade enquanto que extracto aquoso mostrou actividade antibacteriana sobre *Escherichia coli*.

Palavras-chave: Actividade antibacteriana, *Escherichia coli*, *Moringa oleífera*.

ABSTRACT

Mozambique has a high prevalence of diarrheal diseases and urinary tract infections, and in recent years, high rates of antibiotic-resistant microorganisms have been observed globally. To address this issue, medicinal plants are being studied with the aim of developing new drugs. *Moringa oleifera* Lamarck is a plant belonging to the Moringaceae family. In this context, the present study was conducted to analyze the phytochemical composition and *in vitro* antibacterial activity of hydroethanolic and aqueous leaf extracts of *Moringa* against *Escherichia coli*.

Moringa oleifera leaves were harvested in the Marrere neighborhood between 7:00 and 9:00 AM; they were washed, air-dried at room temperature for 15 days, and then ground to produce the plant material. This material underwent maceration for 7 days, followed by filtration and oven-drying. Subsequently, phytochemical analysis was conducted at the Ethnobotany and Phytochemistry Laboratory to qualitatively identify secondary metabolites. Antibacterial activity was assessed at the Clinical Analysis

Laboratory (LAC) of the Nampula Central Hospital (Microbiology Sector) using the disk diffusion method (Kirby-Bauer) on Mueller-Hinton agar. The study is characterized as basic, explanatory, and experimental (laboratory-based), employing a qualitative-quantitative approach. Data analysis was performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 20.

The results are presented in tables; phytochemical analysis revealed the presence of flavonoids, phenols, and tannins in the aqueous extract, whereas flavonoids were absent in the hydroethanolic extract, and phlorotannins were absent in both extracts. Regarding antibacterial activity, the hydroethanolic extract showed no zone of inhibition, while the aqueous extract exhibited zones of inhibition of 14 ± 0.67 mm at the initial concentration, 12 ± 1.11 mm at the second concentration, and 10 ± 1.33 mm at the third concentration. The hydroethanolic extract showed no activity, whereas the aqueous extract demonstrated antibacterial activity against *Escherichia coli*.

Keywords: Antibacterial activity, *Escherichia coli*, *Moringa Oleifera*.

1.0 INTRODUÇÃO

O uso inadequado dos antimicrobianos sintéticos no tratamento e prevenção de doenças em humanos e animais, tais como, metilina, oxacilina e penicilina, está associado ao desenvolvimento de cepas resistentes, que aumentam os casos de mortes e doenças debilitantes, além disso, representam altos custos à saúde pública em todo o mundo (Moura et al., 2015). Sendo que as cepas emergentes de *E. coli* multirresistentes são mais difíceis de tratar e conferem maior risco de bacteremia e morte (Bonten et al., 2021).

Os métodos de desenvolvimento de fármacos antibacterianos não acompanharam a evolução dessa resistência, situação que exige a busca por novas substâncias antibacterianas a partir de outras fontes como as plantas (Leonídio et al., 2019 & Awasthi et al., 2023). Vários tipos de extractos vegetais ou moléculas derivadas de plantas têm sido investigadas por sua potência como fontes antibacterianas e antioxidantes contra várias doenças (Farhan et al., 2021). Um exemplo está na utilização da *Moringa*, que na composição química de suas folhas, flores e sementes são encontrados inúmeros compostos químicos que promovem actividade bactericida (Jesus et al., 2020).

1.1 Resistência Antimicrobiana

A resistência antimicrobiana é um fenómeno ecológico que advém de mutações, transdução ou selecção que ocorre como uma resposta da bactéria à utilização de antibióticos e sua presença no ambiente, podendo levar à mudança de genes entre linhagens dos mesmos géneros ou de géneros diferentes. Antes do século XXI a resistência bacteriana acontecia principalmente em pacientes hospitalizados (Teixeira et

al.,2019).

A resistência aos antimicrobianos pode ocorrer de duas maneiras tais como: Característica intrínseca de certas espécies de bactérias que podem resistir à acção de um dado antibiótico como resultado de uma característica estrutural inerente de dada espécie e adquirida como resultado de mutações que podem ocorrer durante a replicação celular ou aquisição de material genético exógeno anteriormente presente em outro microorganismo que contenha genes de resistência que são propagados por meio de mecanismos de transferência génica horizontal (Freires et al.,2022).

A resistência aos antibióticos é considerada como um problema de saúde pública com maior relevância clínica, porque dificulta o controlo de doenças infecciosas, favorece o aumento da morbimortalidade, diminui a eficácia terapêutica, promove a transmissão de infecções a outros indivíduos, traz risco à segurança do paciente e elevados custos para os cuidados de saúde (Rodrigues et al.,2018).

Para a organização mundial de saúde existe actualmente uma alta proporção de resistência a antibióticos por bactérias que provocam infecções comuns em vários sistemas do organismo, apresentando os pacientes acometidos por infecções maior risco de morbimortalidade. Por ser a resistência aos antibióticos algo presente nos dias actuais em todo mundo, coloca-se em risco os meios de tratamentos disponíveis, tanto na comunidade, como nos hospitais (Rodrigues et al.,2018).

De acordo com o comité nacional para promoção do uso racional de medicamentos (CNPURM), presume-se que um total de 10 milhões de óbitos por ano possa ocorrer até 2050, se não houver acções efectivas para controlar os avanços da resistência bacteriana aos antimicrobianos (Education,2022). Relatórios mundiais têm notificado o preocupante aumento na taxa de microorganismos resistentes aos antibióticos, como é o caso da *Escherichia coli* com as cefalosporinas de terceira geração, que apresentam uma taxa de até 48% de resistência, no continente Americano. Tal crescimento tem estimulado a procura por compostos que possuam potencial antimicrobiano em vegetais (Kowalski et al., 2020).

Um estudo realizado em Moçambique, (Langa,2018) na Universidade Eduardo Mondlane (UEM), com objectivo de analisar o perfil de sensibilidade de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* às cefalosporinas da 3ª geração no Hospital Central de Maputo (HCM), num total de 588 pacientes isolados, sendo 150 ambatório e 438 internados, os dados da resistência obtidos em ceftazidima, ceftriaxona e cefotaxima foram 59.5%; 59.2% e 65.6% para *Klebsiella* e 49.0% ; 50.3% e 43.4% para *Escherichia coli* respectivamente

(www.cecoma.uem.mz, 2018).

1.2 Descrição da Planta *Moringa Oleífera Lamarck*

A *Moringa oleífera Lamarck* (MO) é uma planta da família das *moringaceae*, nativa no norte da Índia em Himalaias e que se adaptou nos diversos continentes (Bonten et al., 2021&Vasconcelos et al., 2010), a árvore cresce actualmente em vários países tropicais e subtropicais de vários continentes do mundo como Ásia, África e América, por causa de suas características adaptáveis e resilientes, como a capacidade de crescer rapidamente, sobreviver em condições de seca e sua longevidade (Anunciação et al., 2020).

Esta espécie possui grande utilidade para a humanidade no campo medicinal, visto que cerca de 300 doenças são curadas com as folhas de moringa e estudos recentes apoiam a reivindicação por apresentar metabólitos secundários com actividades biológicas e farmacológicas diversificadas como: antidiarréico, antioxidante, anticancerosa, antidiabética, antiaterosclerótica, anti-inflamatória, antibacteriana, antimicrobiana, antifúngica, hepatoprotetora, hipoglicêmica, neuroprotetora, cicatrizante, no tratamento de cefaleia, febre, infecções de garganta(faringite), hemorróidas, bronquite, infecção nos olhos (conjuntivites) e ouvidos (otites), escorbuto, dores, hipertensão, úlceras, como diurético, redutor do colesterol, lesões de tecidos, entre outras (Asghar et al., 2022;Bezerra et al., 2020;Sa'adu, et al., 2022).

A *Moringa* apresenta diversas moléculas com actividades antibacterianas. Dentre essas moléculas, destaca-se o benzil-isotiocianato (BITC), pertencente ao grupo dos isotiocianatos. Pterigospermina, flavonóides kaempferol, ramnetina, isoquercetina e kaempferitrina. O extracto da *moringa* também exibiu actividade antibacteriana em bactérias associadas à diarreia: *Serratia marcescens*, *Shigella dysenteriae*, *Enterobacter sp*, *E. coli*, *Klebssiella pneumoniae*, *Salmonella* (Silva et al., 2021).

As folhas de *M. oleífera*, possuem em sua composição aproximadamente 23 compostos fenólicos, incluindo lignanos, antocianinas, flavonas, flavonóis, catequinas, ácidos hidroxicinâmicos e chalconas, identificados em extractos aquosos preparados por decocção e uso de microondas. Além disso, a alta concentração de ácido ascórbico (Vitamina "C"), substâncias estrogénicas e β -sitosterol, vitaminas "A", úteis em escorbuto e afeição catarral, aminoácidos essenciais específicos, como triptofano, metionina e lisina, presentes nas folhas e vagens (cascas), tornam a *M. oleífera* um complemento nutricional ideal (Nascimento et al., 2022& Fadia et al., 2022).

1.3 Metabólitos Secundários

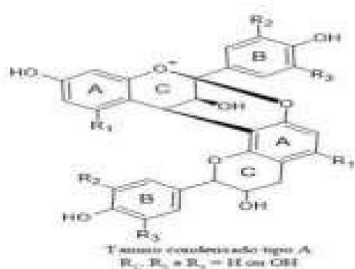
Os metabólitos secundários são compostos naturais produzidos em plantas com objectivo de protecção a stresses abióticos e bióticos. No entanto, classifica-se em metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são compostos que todas as plantas produzem e estão envolvidos no crescimento e desenvolvimento, tais como açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, lipídeos e nucleotídeos ao passo que metabólitos secundários são altamente específicos e actuam na evolução dos vegetais e na interacção com os seres vivos, geralmente estão relacionados com a protecção dos vegetais a stresses bióticos. Tais como: terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados, (Borges et al.,2020).

As rotas dos metabólitos secundários não são gerais, elas são activadas durante processos de crescimento e desenvolvimento ou em momentos de stresses causados por falta de nutrientes ou algum ataque. No entanto a origem de todos os metabólitos secundários é obtido pelo metabolismo da glicose em duas vias de base principais: via do ácido chiquímico e via do acetato (acetil-coa), (Review et al.,2020).

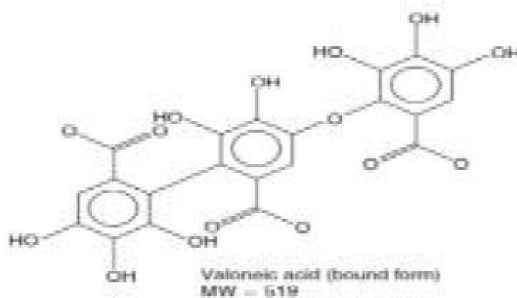
1.3.1 Taninos

Taninos são substâncias de massa molecular que varia de 500 a 3000 Da, ricas em grupos fenólicos e capazes de precipitar ou se ligar a proteínas solúveis em água. Os taninos podem ser classificados segundo sua estrutura química em dois grandes grupos: taninos hidrolisáveis (punicalagina $C_{48}H_{28}O_{30}$) e taninos condensados (catequina $C_{15}H_{14}O_6$). Os taninos condensados são formados pela condensação de subunidades flavan-3-ol (catequina e epicatequina) para formar redes oligoméricas e poliméricas.

Os taninos hidrolisáveis são formados por ácido gálico ou por seu produto de condensação dimérica, o ácido hexaidroxidifenílico, esterificados com um glicosídeo, principalmente a glicose, sendo assim, subdivididos em galotaninos (derivados do ácido gálico) e elagitaninos (derivados do ácido elágico, latona do ácido hexaidroxidifenílico), (Schutz et al.,2022).



Fonte: (Schutz et al.,2022).



Fonte: (PDEP,2018).

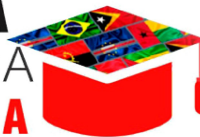


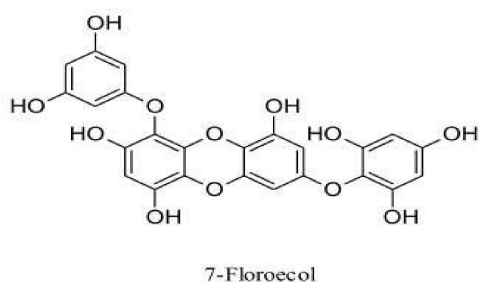
Figura1. Estrutura química de Tanino Condensado; **Figura2.** Estrutura Química de Tanino Hidrolisado.

1.3.2 Actividade Biológica

Vários estudos sobre actividade dos taninos evidenciaram importante acção bactericida, fungicida, antiviral e antitumoral. Pois acredita-se que as actividades farmacológicas dos taninos são divididas em três características: complexação com íons metálicos, actividade antioxidante e sequestradora de radicais livres e ainda a habilidade de complexação com outras moléculas incluindo macromoléculas tais como proteínas e polissacarídeos (Grüner et al.,2012).

1.3.3 Florotaninos

Florotanino é o nome dado aos compostos fenólicos formados de floroglucinol (1,3,5-trihidroxibenzeno), encontrados em diversas quantidades em algas marinhas. Os florotaninos são caracterizados por duas ou mais unidades estruturais de floroglucinol, que são ligadas por meio de ligações co-valentes entre carbonos ou ligações éster denominado anéis benzóicos e agrupamentos ao hidroxilo ou ligações a outros monómeros.



Fonte: (Faria,2019) Figura 3. Estrutura Química de Florotaninos

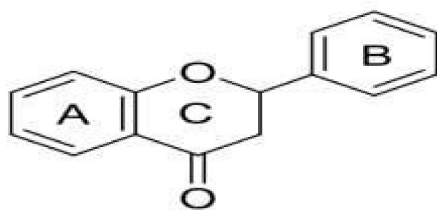
1.3.3.1 Actividade Biológica

Alguns estudos sobre actividade dos florotaninos evidenciam acção antioxidante que está relaccionada ao grupo hidroxilo e que mudam de acordo com a sua quantidade e localização na molécula (Karoline et al.,2021).

1.3.4. Flavonóides

Os flavonóides representam um dos grupos de compostos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural. Pois estão subdivididos em seis classes: flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavonóis e antocianinas.

Quimicamente, a maioria dos flavonóides baseia-se em uma estrutura fundamental que possui um esqueleto formado por 15 átomos de carbono constituído por dois anéis de benzeno (Sousa et al., 2017).



Fonte: (Sousa,2017).Figura 4. Estrutura Química de Flavonóides

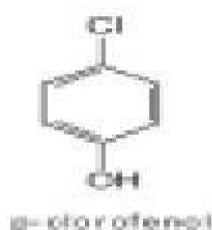
1.3.4.1 Actividade Biológica

A actividade biológica dos flavonóides depende da sua estrutura química e do número de substituintes hidroxilos.A actividade antioxidante dos flavonóides representa uma grande resposta em várias formas de tratamento de diversas doenças, tais como doenças cardiovasculares, doenças genéticas, como câncer e doenças degenerativas, como o Alzheimer (É a causa mais comum de demência, com os principais sintomas a perda da memória, linguagem deficiente de achar palavras, raciocínio e julgamento deficiente por deslocalização no tempo e espaço com mudança de humor e personalidade, apatia,ansiedade e a doença de Parkinson caracterizada pelo distúrbio de movimento por morte de neurónios que produzem a dopamina e sem a dopamina o cérebro tem dificuldade de controlar movimentos motores, não motores,fala e escrita .

Os flavonóides apresentam um importante potencial terapêutico e diferentes actividades biológicas, como actividade antimicrobiana, antifúngica, antiviral, antibacteriana, antiparasitária, actividade imunomoduladora, anti-inflamatória e antioxidante (Moraes et al., 2022).

1.3.5. Fenóis

Compostos fenolicos São substâncias que pertencem a uma classe de compostos, que incluem uma grande diversidade de estruturas simples e complexas. Estes possuem pelo menos um anel aromático no qual, ao menos, um hidrogénio é substituído por um agrupamento hidroxilo. Pois os fenóis estão entre os mais importantes constituintes vegetais que dão origem a outros produtos como os taninos.



Fonte:(Allinger,2004).Figura 5. Estrutura química de Fenóis

1.3.5.1 Actividade Biológica: muitos estudos evidenciam sua actividade antioxidante, anti-inflamatória e antibacteriano (Willian et al., 2021).

1.4 Escherichia coli

Escherichia coli (*E. coli*) são bactérias gram-negativas da família enterobacteriaceae que podem colonizar inofensivamente o intestino humano ou causar infecções intestinais ou extra-intestinais, incluindo doenças invasivas graves, como bacteremia (Bonten et al., 2021).

É o principal agente etiológico de infecções entéricas causada pela água e alimentos contaminados, principalmente em grupos populacionais que não dispõem de sistema de saneamento, ou se apresentam vulneráveis como os idosos e crianças imunocomprometidos, é considerado um dos principais causadores de doença diarreica no mundo, (Vasconcelos et al., 2010 & Faúla et al., 2017).

Globalmente, há aproximadamente 1,7 bilhões de casos de doenças diarreicas e 4 milhões de crianças com menos de 5 anos morrem de diarreia todo ano (Cavalcante et al., 2014). Na África, estima-se que cada criança tenha cinco episódios de diarreia por ano e que 800.000 crianças morrem todos os anos de diarreia e desidratação (Turyare et al., 2021). Estima-se que até 2030, cerca de 4,4 milhões de crianças menores de cinco anos morrerão de doenças infecciosas anualmente e que 60% dessas mortes ocorrerão na África Subsaariana (Dairo et al., 2017 & Thiam et al., 2017).

Em Moçambique, assim como ocorre na maioria dos outros países da África subsaariana, as doenças diarreicas são uma das principais causas de morbilidade e mortalidade, especialmente entre as crianças menores de 5 anos. Esta enfermidade é considerada a terceira principal causa de morte na população pediátrica de faixa etária entre 0-14 anos, sendo responsável por uma em cada 10 mortes nesta faixa etária (Acácio et al., 2019).

2.0 OBJECTIVOS

2.1 Geral

- ❖ Analisar a composição fitoquímica e actividade antibacteriana in vitro dos extractos hidroetanólico e aquoso das folhas de *Moringa oleífera* Lamarck contra *E. coli*.

2.2 Específicos

- ❖ Identificar as classes químicas dos metabólitos secundários presentes nos extractos;

- ❖ Testar a sensibilidade de *E. coli* aos extractos hidroetanólico e aquoso;
- ❖ Comparar as médias dos halos de inibição entre os extractos.

3.0 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de Estudo

O estudo foi realizado no Laboratório de Etnobotânica e Fitoquímica da universidade Lúrio, Centro de Estudos Interdisciplinares da Lúrio (CEIL) e no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Central de Nampula (LAC-HCN).

3.1.1 Universidade Lúrio

O Laboratório de Etnobotânica e Fitoquímica, bem como CEIL encontram-se na Universidade Lúrio, localizado no bairro Marrere, rua número 4250, à 2,3km da cidade de Nampula, província de Nampula, situada na região norte de Moçambique.

3.1.2 Hospital Central de Nampula

O Hospital Central de Nampula (HCN) é uma unidade sanitária de nível terciário e de referência da região norte de Moçambique, localizada na Avenida Samora Machel. O estudo foi realizado no Laboratório de Análises Clínicas, no sector de microbiologia-bacteriologia.

3.1.3 Tipos de Estudo

Quanto a Natureza: é uma pesquisa básica, porque neste estudo, procura-se gerar conhecimentos novos úteis para o avanço da ciência sem aplicação imediata (Romanowski et al.,2019).

Quanto aos Objectivos: é uma pesquisa explicativa porque aprofunda o conhecimento da realidade, explicando a razão das coisas através dos resultados oferecidos (Andrade et al.,2020).

Quanto a Forma de Abordagem: a pesquisa é quali-quantitativo (Andrade et al.,2020& Fontelles et al.,2012).

Quanto aos Procedimentos Técnicos: é uma pesquisa experimental porque ela define as formas de controlo e de observação dos efeitos que as variáveis produzem no objecto (Fontelles et al.,2012).

3.2 Definição do Universo e Escolha da Amostra

3.2.1 Material Vegetal

As folhas de *Moringa* foram colhidas no bairro de Marrere, seleccionada de acordo com os critérios estabelecidos pelos autores, de forma racional. Os critérios são: avaliação de localização da planta e suas condições, se estão longe de latrinas e estradas para evitar

a sua contaminação se há presença de algumas impurezas nas folhas, cor apropriado de folhas e contaminação de planta por insectos.

3.2.2 Microorganismos

As colónias de *Escherichia coli* foram disponibilizadas mediante um credencial no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Central de Nampula (LAC-HCN).

3.3 Amostragem

3.3.1 Material Vegetal

Amostragem do tipo não probabilística, em que o investigador seleccionou uma quantidade suficiente de folhas de diferentes plantas de *Moringa oleífera* para a secagem, posteriormente usando 150g de pó das folhas para a maceração, o extracto obtido é que serviu para análise.

Obtenção de Material Vegetal: As folhas de *Moringa* foram adquiridas em residências do bairro de Marrere na cidade de Nampula no período das 7 horas as 9 horas. No acto da recolha foram avaliadas as condições das folhas, descartadas as que não apresentarem condições desejadas.

Pré-Tratamento das Folhas de Moringa: Antes do processo de extracção foi feito o tratamento primário das folhas de *Moringa*, *triagem* no Laboratório de Etnobotânica e Fitoquímica, onde verificou-se a cor das folhas colhidas, se elas são velhas ou jovens, se há presença de ácaros, em seguida as folhas foram lavadas e submetidas no processo de secagem a sombrio a temperatura ambiente durante 14 dias. Após este método, as folhas foram trituradas para posterior maceração por 7 dia.

3.3.2 Microorganismo

Amostragem do tipo não probabilística, onde foram utilizados os microorganismos das amostras presentes no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Central de Nampula (LAC-HCN).

Tabela 1: Variáveis

Variáveis Independentes	Variáveis Dependentes
Concentração do Extracto	Classes químicas de metabólitos secundários;
	Halo de inibição;
	Sensibilidade dos microorganismos

3.3.3 Selecção e Caracterização dos Instrumentos de Intervenção e Medida

Os instrumentos utilizados durante a pesquisa foram seleccionados consoante a pretensão da análise, sendo os instrumentos calibrados antes de qualquer ensaio.

Tabela2: Caracterização de Instrumentos

Instrumento	Finalidade	Reagentes
Balança Analítica	Pesagem do material vegetal	• Água destilada • Etanol 80% • Ácido clorídrico 1% • Cloreto férrico 10% • Hidróxido de sódio 20% • Reagente de Wagner
Tubos de Ensaio	Para colocar a amostra líquida	
Incubadora	Para estimular o crescimento de microrganismos	
Baldinhos	Para macerar material vegetal	
Estufa	Secagem do material vegetal	
Vidro de Relógio	Pesagem de amostra vegetal	
Frasco	Conservar amostras	
Balão Volumétrico	Realizar misturas e conservar amostra	
Copo de Bequer	Realizar mistura	
Espátula	Facilitar na transferência da amostra vegetal	

3.4 Recolha de Dados

Usou-se uma ficha de recolha de dados, preenchida no momento dos ensaios laboratoriais. Onde consta a identificação de classes químicas dos metabólitos secundários e actividade antibacteriana dos extractos.

Tabela 3: Processo de Secagem

Peso antes de Secagem	Peso após a Secagem	Teor de Humidade Perdida
790g	220g	72,15%

3.5 Métodos de Extracção

3.5.1 Extracto Hidroetanólico

Pesou-se 50g de pó das folhas secas de *Moringa* no CEIL para 225 ml da solução etanólica à 80%, em seguida maceração por 7 dias à temperatura ambiente, protegida da luz, com homogeneização e agitação manual diária do extracto, depois procedeu-se com a filtragem da solução com algodão. A solução filtrada foi submetida a evaporação do solvente com auxílio de uma estufa à temperatura de 100°C, a fim de retirar-se todo o solvente (Smith et al.,2016).

3.5.2 Extracto Aquoso

Pesou-se 50g de pó das folhas secas de *Moringa* no CEIL para 300 ml da solução aquosa, em seguida maceração por 7 dias à temperatura ambiente, protegida da luz, com homogeneização e agitação manual diária do extracto, depois procedeu-se com a filtragem da solução com algodão. A solução filtrada foi submetida a evaporação do solvente com auxílio de uma estufa à temperatura de 100°C, a fim de retirar-se todo o solvente (Smith et al.,2016).

3.5.3 Determinação do Rendimento Percentual

Para determinar o rendimento percentual usa-se a seguinte Formula:

$$\text{Re \%} = \frac{\text{massa de extracto seco}}{\text{massa de extracto Fluido}} \times 100$$

Determinação do rendimento para
 extracto Hidroetanólico:

$$\text{Re \%} = \frac{4,2}{65,7} \times 100, \text{ isto é}$$

igual à 6,39%.

Determinação do rendimento para
 extracto Aquoso:

$$\text{Re \%} = \frac{2,9}{101,6} \times 100, \text{ isto é}$$

igual à 2,85%.

3.5.4 Identificação das Classes de Metabólitos Secundários

Os ensaios de identificação de metabólitos secundários foram realizados em triplicado.

Teste para Taninos: Dois (2) gramas de cada extracto foram dissolvidos em 10ml de água destilada em teste separado tubos e 3 gotas de cloreto férrico a 10% (FeCl_3) foi adicionado 2ml da solução. A ocorrência de coloração azul-escura, verde ou verde-escuro indica a presença de taninos (Unegbu et al.,2020).

Teste para Florotaninos: Cerca de 0,2g de cada extracto de *Moringa* foi fervido em 1ml de HCl à 1%, as deposições de um precipitado vermelho indicam a presença de florotaninos (Unegbu et al.,2020).

Teste para Flavonóides: Os extractos foram tratados com algumas gotas de 20% de solução de hidróxido de sódio. Sendo que a Formação de uma cor amarela intensa, que se torna incolor na adição de ácido clorídrico diluído, indica a presença de flavonóides (Begum et al.,2021).

Teste para Fenóis :3ml de extracto de *Moringa Oleífera* somado a 5ml de água destilada, em seguida, adiciona-se algumas gotas de cloreto férrico a 5% aviso verde-escuro indica a presença de fenóis (Fadia et al., 2022).

3.5.6 Cultura de Cepas Microbianas

As cepas de *Escherichia coli* foram obtidas a partir de cultivo de uma amostra de urina de um paciente internado na medicina 1 do Hospital Central de Nampula (HCN) e cultivada no sector de microbiologia do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Central de Nampula (LAC-HCN), local onde foram realizados os ensaios *in vitro*. Este microorganismo foi cultivado em meio de ágar Macconkey e ágar Cled, incubado por 24 horas à 37°C.

3.5.7 Preparação das Concentrações

Para proceder-se a preparação das concentrações de dois extractos de *Moringa* foi preciso pesar 1g de cada extracto depois preparou-se 6 tubos de ensaio por cada extracto.

3.5.7.1 Passos de Preparação de Extracto Hidroetanólico:

- ✓ Dissolver 1g de extracto hidroetanólico em 10 ml da solvente hidroetanólico

à 80% no tubo de ensaio para obtenção de extracto bruto ou puro;

- ✓ Retirar 1 ml de extracto bruto transferir no outro tubo de ensaio e adiciona-se 1ml de solvente hidroetanólico à 80%, para perfazer concentração à 100%;
- ✓ Retirar 1ml da concentração à 100% transferir no outro tubo de ensaio e adiciona-se 1 ml de solvente hidroetanólico à 80%, para perfazer concentração à 50%;
- ✓ Retirar 1 ml da concentração à 50% transferir no outro tubo de ensaio e adiciona-se 1 ml de solvente hidroetanólico à 80%, para perfazer concentração à 25%;
- ✓ Retirar 1 ml da concentração à 25% transferir no outro tubo de ensaio e adiciona-se 1 ml de solvente hidroetanólico a 80%, para perfazer concentração à 12,5%.
- ✓ Retirar 1 ml da concentração à 12,5% transferir no outro tubo de ensaio e adiciona-se 1 ml de solvente hidroetanólico a 80%, para perfazer concentração à 6,25%.

3.5.7.2 Passos de preparação de extracto Aquoso:

- ✓ Dissolver 1g de extracto aquoso em 10 ml de água destilada no tubo de ensaio para obtenção de extracto bruto ou puro.
- ✓ Retirar 1 ml de extracto bruto transferir no outro tubo de ensaio e adiciona-se 1 ml de água destilada, para perfazer concentração à 100%.
- ✓ Retirar 1 ml da concentração à 100% transferir no outro tubo de ensaio e adiciona-se 1 ml de água destilada, para perfazer concentração à 50%.
- ✓ Retirar 1 ml da concentração à 50% transferir no outro tubo de ensaio e adiciona-se 1 ml de água destilada, para perfazer concentração à 25%.
- ✓ Retirar 1 ml da concentração à 25% transferir no outro tubo de ensaio e adiciona-se 1 ml de água destilada, para perfazer concentração à 12,5%.
- ✓ Retirar 1 ml da concentração à 12,5% transferir no outro tubo de ensaio e adiciona-se 1 ml de água destilada, para perfazer concentração à

6,25%.

3.5.7.3 Preparação da Suspensão Microbiana

Prepara-se 1ml da solução salina à 0,9%, em seguida com ajuda de zaragatoa estéril transferiu-se as colónias dos microrganismos cultivados em meio de ágar Macconkey e ágar Cled, para ser suspensos em solução salina à 0,9% previamente colocado nos tubos de ensaio, até a obtenção da turvação igual na escala de 0.5 McFarland.

3.5.7.4 Inoculação das Placas de Teste

- ✓ Mergulha-se um swab de zaragatoa estéril em placa de ágar que contém as colónias de *E. coli*, em seguida foi transferida e imerso num tubo de ensaio que contém solução salina a 0,9 % até a obtenção da turbidez;
- ✓ O swab gira-se várias vezes na solução salina para retirar o excesso de inoculo no swab. Por fim esfrega-se uniformemente na superfície no meio Muller na placa de ágar Hinton.

3.5.7.5 Actividade Antibacteriana *in Vitro*

Ensaio de Disco Difusão (Metodo Kirby Bauer): As cepas bacterianas foram isoladas e inoculadas em Muller placas de ágar Hinton, em seguida, usou-se discos estéreis de papel filtro (6 mm) foram imerso durante 20 minutos em diferentes concentrações dos dois extractos a ser testado bem como controle negativo e positivo dos dois extractos, em seguida cada disco foi pressionado de encontro à placa, de maneira a assegurar contacto completo com a superfície de ágar, depois incubou-se à 37 °C por 24 horas. No fim fez-se medição da zona de inibição em milímetros usando um parquímetro (Begum et al., 2021).

3.5.7.6 Determinação da Concentração Inibitória Mínima

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM), em diferentes concentrações de extracto vegetal de *M. Oleífera* capaz de inibir *E. coli* não foi encontrada devido algumas falhas durante a preparação das concentrações feitas, sendo que se encontra à baixo de concentração de 25% do extracto aquoso e verificou-se que controle negativo (água destilada e etanólico a 80%) não teve actividade ao passo controle positivo (Amoxicilina + Acido clavulanico) teve actividade com halo de inibição de 18 mm. A CIM foi definida como a menor

concentração do extracto no qual uma zona inibitória foi detectada pela primeira vez, (Smith et al.,2016).

3.6 Tratamento de Dados

As amostras foram processadas em triplicado e foi usado statistical package for the social sciences (spss) versão 20.0 e Microsoft excel 2013, descritos em média e desvio padrão (DP). Os resultados foram apresentados em tabelas e gráficos.

3.7 Análise Estatística

Usou-se o Teste de Homogeneidade de Variâncias e a Análise de Variância (ANOVA) para a comparação das concentrações em função das médias dos halos de inibição. A estatística de Fisher foi usado para comparar as médias dos halos de inibição determinados em função das concentrações dos extractos e o teste Tukey foi aplicado para a identificação de quais grupos apresentam semelhanças.

3.8 Considerações Éticas

O Trabalho foi devidamente autorizado para a realização dos ensaios no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Central de Nampula (LAC-HCN), ao Director científico do HCN, depois de visado pelo Director Clínico em 05 de Outubro de 2023, O Credencial N°278/2023 de 02 de Setembro de 2023, Homologado em 01 de Novembro de 2023, passado pelo Director da Faculdade de Ciências de Saúde (FCS) da Universidade Lúrio, depois do parecer favorável do CTCF-Concelho Técnico Científico do Curso de Farmácia e Departamento de Formação contínua do HCN, onde consta a duração dos ensaios. A pesquisa com finalidade académica, técnico-científica, para contribuir no conhecimento científico e para ajudar a população. O pesquisador sem nenhum interesse lucrativo, nem conflito de interesse que o pesquisador possa comprometer-se em adulterar os seus resultados.

4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise Fitoquímica do extracto Hidroetanólico e Aquoso de folhas de Moringa Oleífera

A tabela 4 a baixo, ilustra resultados da análise fitoquímica do extracto hidroetanólico à 80% e aquoso das folhas de *Moringa oleífera* que revelou a

presença das seguintes classes de metabolitos: Taninos, Fenóis e ausente, Florotaninos, em ambos extractos, sendo os dois extractos diferem pelo facto de extracto aquoso apresentar Flavonóides que é ausente em extracto hidroetanólico.

Tabela 4. Identificação de Metabolitos Secundários

Metabólitos Secundários	Extracto Hidroetanólico à 80%	Extracto Aquoso
Taninos	+	+
Florotaninos	-	-
Flavonóides	-	+
Fenóis	+	+
Teste em Branco	-	-

Resultado positivo + e Negativo –

As análises foram triplicadas e os resultados foram considerados positivos para Taninos depois da formação de uma coloração azul-escuro, após a adição de 3 gotas de Cloreto férrico à 10 % ao extracto hidroetanólico à 80% e Aquoso, e sem alteração da coloração da solução para o branco (Unegbu et al.,2020). Para florotaninos considerou-se negativo visto que não houve as deposições de um precipitado vermelho quando foi fervido com ácido clorídrico à 1% nos dois extractos e sem deposições precipitado vermelho para o branco (Unegbu et al.,2020).

Para flavonóides foram considerados positivos apenas no extracto aquoso apresentado uma formação de cor amarela intensa, que se torna incolor na adição de ácido clorídrico(HCL) diluído e sem a formação de cor amarela intensa, que se torna incolor na adição de ácido clorídrico diluído para o extracto hidroetanólico e teste em branco (Begum et al.,2021).

Em fim os fenóis foram positivos em ambos extractos devido a formação da coloração verde-escuro após adição de cloreto férrico à 5% e sem alteração da coloração para teste em branco (Fadia et al.,2022).

Um estudo realizado por Marina Silva em 2020 e seus colaboradores relataram

que o uso de água e etanol na extracção de compostos fenólicos é responsável por extrair antocianinas, taninos, polifenóis, flavonóides, terpenos e alcalóides com maior facilidade (Silva et al.,2020).

Resultados encontrados em Brasil,por (Monteiro et al.,2021), detectaram nas folhas de *Moringa Oleífera* de extracto Etanólico, presença de Taninos e Fenóis com ausência de Flavonóide, isto revela semelhança com este estudo apesar de não sendo usado o extracto Aquoso. Pois revela que ausência de alguns compostos fitoquímico nos extractos é devido aos factores genéticos, ontogenéticos e ambientais da planta, divergem de resultados encontrados por Louise Cristina Freitas Saraiva em 2018, na identificação dos metabólicos secundários no extracto etanólico das folhas de *Moringa oleífera* evidenciaram presença de taninos, alcalóides, flavonóides e Cumarina (William et al., 2021& Cristina et al.,2018).

Resultados obtidos por José C. Pina em 2018, que detectou nas folhas de *Moringa Oleífera* de extractos aquoso e metanólico à 20%, presença de flavonóides, Taninos, compostos fenólicos (fenóis),revela semelhança com este estudo (Moringa et al., 2018).

Actividade Antibacteriana do Extracto de Folhas de *M. Oleífera*

- **O Extracto Hidroetanólico das Folhas de *Moringa Oleífera***

O Extracto Hidroetanólico das folhas de *Moringa oleífera* não demonstrou resultados de actividade antibacteriana frente as cepas de *E. coli*, pois o mesmo foi observado no controlo negativo em quanto que no controlo positivo demonstrou actividade.

- **O Extracto Aquoso das Folhas de *Moringa Oleífera***

O Extracto aquoso das folhas de *Moringa oleífera* demonstrou resultados significantes de actividade antibacteriana frente as cepas de *E. coli*, o maior halo de inibição foi observado nas três concentrações mais altas estudadas de 25mg/ml, onde verificou-se um halo de inibição de $10\text{mm} \pm 1,33$, para concentração de 50mg/ml o halo de inibição foi de $12\text{mm} \pm 1,11$ e para concentração de 100mg/ml

o halo de inibição foi de $14\text{mm} \pm 0,67$ para *E. Coli*. Também através dos resultados abaixo apresentados na Tabela, pode-se observar que o controlo negativo não teve actividade ao passo que o positivo teve efeito nas cepas do *E. coli*.

Tabela 5. Halos de Inibição

Halos de Inibição				
Concentrações	Extracto Aquoso	Extracto Hidroetanólico à 80%	Controlo Positivo	Controlo Negativo
C1	$14 \pm 0,67\text{mm}$	$0 \pm 00\text{mm}$	$180 \pm 00\text{mm}$	$0 \pm 00\text{mm}$
C2	$12 \pm 1,11\text{mm}$	$0 \pm 00\text{mm}$		$0 \pm 00\text{mm}$
C3	$10 \pm 1,33\text{mm}$	$0 \pm 00\text{mm}$		$0 \pm 00\text{mm}$
C4	$0 \pm 00\text{mm}$	$0 \pm 00\text{mm}$		$0 \pm 00\text{mm}$
C5	$0 \pm 00\text{mm}$	$0 \pm 00\text{mm}$		$0 \pm 00\text{mm}$

Estudo de Paula Ribeiro Buarque Feitosa em 2018 no Brasil, com objectivo de avaliar o potencial antimicrobiano de diferentes extractos das folhas e sementes de *Moringa oleífera* frente à *Escherichia coli* e outras bactérias, pelo método de disco-difusão (Kirby-Bauer) em Agar Muller Hinton, o seu extracto Aquoso não obteve nenhum resultado positivo nas bactérias gram-negativo analisadas quanto a sua sensibilidade excepto, extracto etanólico e acetona testado em bactérias de gram-positivo, devido à existência da membrana externa que circunda a parede celular, a qual restringe a difusão de compostos hidrofóbicos. Estes resultados não corroboram com os resultados deste estudo (Ribeiro et al., 2023).

Estudo realizado por Unegbu V, em 2020, na Nigéria, com o objectivo de identificar os constituintes fitoquímicos e propriedades antimicrobianos dos extractos etanólicos e aquoso da folha de *Moringa oleífera* sobre *Staphylococcus aureus* e *E. coli*. Pelo método de disco-difusão obteve-se seguintes resultados: halo de inibição de extracto etanolico de 9mm para *S. Aureus* e 20mm para *E. coli* ao passo que extracto aquoso foi de 7 mm para *S. aureus* e 19 mm para *E. coli*. Estes

resultados assemelham-se com os resultados deste estudo para *E. coli* no extracto aquoso (Unegbu et al.,2020).

Estudo realizado por Mendes e Serra em 2022, como objectivo de realizar testes fitoquímicos e de avaliação da actividade antibacteriana e antifúngica em extractos etanólico e hidroalcoólico das folhas de *Moringa oleífera*, sobre *Escherichia coli*, pelo método de disco-difusão obteve-se: 12mm de halo de inibição de *Escherichia coli* para extracto hidroalcoólico e sem actividade para o extracto etanolico. Estes resultados divergem com os resultados deste estudo (Tópicos em ciências Farmacêuticas, 2022).

Estudo realizado por Abalaka 2012, com objectivo de avaliar actividade antibacteriana de extractos clorofórmio e aquoso das folhas de *Moringa Oleífera* sobre *Escherichia coli* e outras bactérias, pelo método de difusão-disco, obteve os seguintes resultados: 20 mm $\pm$ 0,03 de halo de inibição de *E. coli* para o extracto aquoso e 30 mm $\pm$ 0,01 de halo de inibição para extracto clorofórmio.Estes resultados assemelham-se com os resultados deste estudo (Abalaka et al.,2012).

4.1 Resultados de Análise dos de Dados Estatísticos

A análise dos resultados, conforme apresentados na tabela 6 e gráfico 1, oferece informações significativas sobre os efeitos do extracto de *Moringa Oleífera* sobre *Escherichia coli* em diferentes concentrações. A concentração inicial (C1) demonstrou um halo de inibição superior, reflectida por sua média mais elevada (14.0000) e menor coeficiente de variação (7.14%). A menor dispersão entre as repetições sugere uma resposta mais consistente, indicando uma possível eficácia mais estável nessa concentração.

Em contraste, a concentração 3 (C3) revelou uma média inferior de halos de inibição (10.0000), indicando um efeito inibitório menos pronunciado. A maior dispersão, representada pelo coeficiente de variação de 20%, sugere uma variabilidade mais ampla nas respostas, indicando possível influência de factores ambientais ou proximidade da concentração mínima inibitória. Estes resultados, corroboram com os resultados da pesquisa de Jahan, o qual constatou que o

efeito inibitório dependente da dose e que o halo máximo de inibição 20 mm contra *E. coli* na concentração de 100% (1000µg/ml). A concentração inibitória mínima foi de 500µg/ml contra *Escherichia coli* (Jahan et al.,2022).

Os estudos de Kanan são similares aos resultados desta pesquisa, pois ele constatou de igual modo que os extractos da *Moringa Oleífera* possuem actividade antibacteriana sobre a *E. coli* e os halos de inibição formados nas concentrações de 50%, 40%, 30%, 20%, 10% e 0% foram de 15,55 mm; 13,80 mm; 13,10 mm; 10,10 mm e 0 mm, respectivamente. A concentração inibitória mínima da infusão foliar contra isolados de *E. coli* foi de 25% e a concentração bactericida mínima não pôde ser determinada porque todas as concentrações testadas mostraram crescimento bacteriano (Kanan et al.,2023).

Os resultados da pesquisa de Vieira corroboram com os resultados desta pesquisa, pois mostraram o efeito antibacteriano (halo de inibição > 13mm) dos extractos aquosos e etanólicos de moringa frente a *S. aureus*, *V. cholerae* e *E. coli* e a média do halo de inibição deste encontra-se em concordância com o observado nesta pesquisa conforme apresentado na tabela 1 (Vieira et al.,2010).

A pesquisa de Neto, testou a capacidade dos extractos das folhas de *Moringa* sobre a *E. coli* e concluiu a ausência de actividade contra a *E. coli*. Estes resultados são contraditórios aos resultados desta pesquisa por várias razões, destacam-se o tipo de extracção usado, a fonte dos microrganismos e as concentrações usadas para o teste (Pinto et al.,2019).

Tabela 6. Resumo Estatístico dos Halos de Inibição para Diferentes

Concentrações de Extracto de *Moringa Oleífera* sobre *Escherichia coli*"

Concentração	Média	Dp	CV (%)	Grupos pelo teste de Tukey
C1	14.0000	1.0000	7.14	A
C2	12.3333	1.5275	12.39	Ab
C3	10.0000	2.0000	20	B

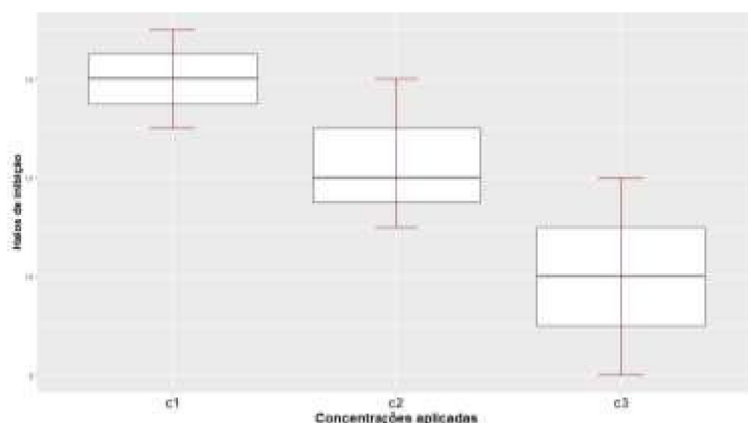
Legenda: C1: Concentração 1; Dp: Desvio Padrão; CV: Coeficiente de Variação;

A,B,Ab: Comparativos de Grupos de semelhança.

O Gráfico 1 complementa as análises estatísticas, proporcionando uma representação visual das diferenças nas respostas inibitórias entre as concentrações. As barras correspondentes a C1 evidenciam uma consistência notável, enquanto as barras referentes a C3 mostram uma dispersão mais ampla, corroborando as observações estatísticas.

Os resultados sugerem que a concentração inicial pode ser mais eficaz e consistente, indicando potencial aplicabilidade prática. A variação observada em C3 sugere a necessidade de investigação adicional para compreender melhor os factores que contribuem para a variabilidade.

Gráfico 1. Distribuição dos halos de inibição em função da concentração do extracto



Os resultados apresentados na Tabela 7, que incluem o Teste de Homogeneidade de Variâncias e a Análise de Variância (ANOVA) para a comparação das concentrações em função das médias dos halos de inibição. O Teste de Homogeneidade de Variâncias, representado pelo valor de $K-squared=0.73286$, não evidencia diferenças significativas na variabilidade entre as concentrações.

O p-valor associado a este teste (0.6932) é maior que o nível de significância usual de 0.05, indicando a que o estudo não reuniu evidências suficientes para negar a hipótese de que as variâncias dos halos de inibição determinados em função das concentrações são homogêneas. Isso sugere que as variâncias entre as concentrações são estatisticamente semelhantes, justificando a aplicação da ANOVA.

Tabela 7. Teste de Homogeneidade de Variâncias e ANOVA para Comparação das concentrações

Comparações		p-valor
Homogeneidade de variâncias	K-squared = 0.73286	0.6932
ANOVA	SQM= 12.111	F-value= 4.955 0.0536

Legenda: ANOVA- Análise de Variâncias; SQM: Soma dos quadrados da média; F: Estatística de Fisher; p: Probabilidade ou significância

A estatística de F(4.955) indica que existe alguma variação nas médias dos halos de inibição determinados em função das concentrações. O p-valor (0.0536) sugere que, embora não atinja o nível de significância convencional de 0.05, há uma tendência em direcção à significância estatística. Quando executado o teste Tukey aplicado para a identificação de quais grupos apresentam essa semelhança (representado na tabela 6 na coluna grupos pelo teste de Tukey), nota-se que as médias dos grupos 1 e 2 (ambos possuem “a”) são semelhantes entre si e grupos 2 e 3 (ambos possuem “b”) são semelhantes, ao passo que os grupos 1 e 3 (“a” e “b”, respectivamente) são diferentes embora essa diferença não seja estatisticamente significativa.

5.0 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostram que o extracto hidroetanólico e aquoso das folhas de *Moringa Oleífera* foram positivos para Fenóis e Taninos, negativo para Florotaninos e diferem por extracto aquoso apresentar Flavonóides.

Extracto aquoso mostrou actividade antibacteriana ao inibir as cepas de *Escherchia coli* ao passo que o extracto hidroetanólico não teve actividade. O melhor extracto foi aquoso em comparação ao extracto hidroetanólico, pois o extracto aquoso apresentou halos de inibição ao passo que hidroetanólico não apresentou.

Os dados obtidos na análise de ANOVA mostraram limitações, razão pelo qual usou-se o teste de Tukey como um suporte para indicar qual dos três grupos estudados diferem um do outro, tendo resultado em que as médias dos grupos 1

e 2 (ambos possuem “a”) são semelhantes entre si e grupos 2 e 3 (ambos possuem “b”) são semelhantes, ao passo que os grupos 1 e 3 (“a” e “b”, respectivamente) são diferentes para além de que o teste estatística de F(4.955) indicar que existe alguma variação nas médias dos halos de inibição determinados em função das concentrações.

6.0REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABALAKA ME, Daniyan SY, Oyeleke SB, Adeyemo SO (2012). The Antibacterial Evaluation of Moringa Oleifera Leaf Extracts on Selected Bacterial Pathogens.
- ACACIO S, Mandomando I, Nhampossa T, Quintó L, Vubil D, Saco C,(2019). Riskfactors for death among children 0-59 months of age with moderate-to-severe diarrhea in Manhica district,southern Mozambique. BMC Infect Dis.
- ANDRADE SM, Pegolo GE(2020). A pesquisa científica em saúde: Concepção, Execução e Apresentação. 2.ed.Campo Grande,MS:Ed.UFMS.
- ANUNCIAÇÃO KF, Sousa LRD, Amparo T R, Souza GHB, Vieira PMA, Breguez GS, Dos Santos VMR,Melo TMS(2020). Avaliação da Actividade Antioxidante e Fenóis Totais dos Óleos Extraídos das Sementes de Moringa oleífera Lam. Rev. Virtual Quim.
- ALLINGER, Norman L.(2004).Química Orgânica.Rio de Janeiro: LTC. Alcoóis, éteres, fenóis e compostos de enxofre.
- AWASTHI M, Pokhrel CP, You YH, Balami S, Kunwar RM, Thapa S,(2023). Comparative assessment of ethnobotany and antibacterial activity of Moringa oleífera Lam. in Nepal. Ethnobotany Research and Applications.
- ASGHAR N, Aziz A, Azhar MF, El-Sharnouby M, Irfan U, Rafiq I.(2022). Assessment of Phytochemical Analysis, Nutritional Composition and Antimicrobial Activity of Maringa oleífera. Phytton.
- BEGUM S, Asenga JS, Ndesendo VMK, Ngingo BL(2021). Evaluation of Antibacterial Activities of Tanzanian Moringa oleífera Extracts against Escherichia coli and Klebsiella pneumonia Clinical Isolates. Tanz.J.Sci.
- BESERRA MSS (2020). Identificação de compostos orgânicos presentes nos extractos etanólico e hexânico das folhas da Moringa oleífera LAM. Teresina – PI: Universidade estadual do Piauí.
- BONTEN M, Johnson JR, Biggelaar AHJVD, Georgalis L, Geurtsen J, Palacios PI(2021). Epidemiology of Escherichia coli:A Systematic Literature Review of E. coli

Bacteremia.

- BORGES L. P , Amorim V. A. (2020), metabólitos secundários de plantas secondary plant metabolites.Revista Agrotecnologia, Ipameri, v.11, n.1, p.54-67.
- BUSANI M,Julius MP,Voster M (2012). Antimicrobial activities of Moringa oleifera Lam leaf extracts.Afr.J.Biotechnol.
- CAVALCANTE RBL(2014). Ocorrência de Escherichia coli em fontes de água e pontos de consumo em uma comunidade rural.Rev.Ambient.Água.
- CRISTINA L,Saraiva F, Matias W, Maia N, Leal FR(2018).Triagem fitoquímica das folhas de Moringa oleifera Phytochemical screening of Moringa oleifera leaves.
- DAIRO MD, Ibrahim TF, Salawu AT(2017). Prevalence and determinants of diarrhoea among infants in selected primary health centres in kaduna north local government area, nigeria. PanAfrMed J.
- EDUCATION H, Related S, Resistance B, Estrategias A. Estratégias de Educação em Saúde Relacionadas à Resistência Bacteriana aos Antibióticos. 2022;198–218.
- EM PDEP (2018), Química de taninos.
- FADIA Taufik M, Rashed A, Oshkondali STM, Alacrouk SA, Sleman K (2022). Antibacterial Activities of Moringa oleifera Leaf Extract on Some Human Pathogenic Bacteria. Saudi J MedPharmSci.
- FARIA B, Pimenta G (2019). Estudo das atividades biológicas da alga Undaria pinnatifida.
- FARHAN SR, AL-Azawi AH, AL-Shamary EI (2021). The Antioxidant and Antibacterial Activity of Moringa Oleifera Extracts against some Foodborne Pathogens. Medico-legal Update.
- FAÚLA LL, Cerqueira MMOP, Magalhães PP(2017). Perfil de susceptibilidade antimicrobiana e identificação de patótipos diarreogênicos entre amostras de Escherichia coli isoladas de alimentos. R. bras.Ci.Vet.
- FREIRES MS, Martins O, Junior R (2022). Resistência bacteriana pelo uso indiscriminado da azitromicina frente a Covid-19 :Revisão integrativa Bacterial resistance to indiscriminate use of azithromycin versus Covid-19.
- FONTELLES MJ(2012). Bioestatística aplicada à pesquisa experimental:volume 1.São Paulo: Editora Livraria da Física.
- GRUNER J.M, Souza T.K, Benitez L.B, Silva C.M (2012), análise do perfil fitoquímico de Tripodanthusa cutifolius (RUIZ & PAVÓN) tieghem, loranthaceae, Revista Jovens

- JAHAN S, Shahjahan M, Rasna SS, Aktar M, Sultana S, Ahmed SM (2022). Antibacterial Effect of Moringa (Moringa oleifera) Leaf Ethanolic Extract Against Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Mymensingh Med J [Internet]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36189541/>
- JESUS RS (2020). Avaliação do potencial antibacteriano do extracto hidroalcoólico de Moringa oleífera Lamarck FRENTE Staphylococcus aureus [Monografia]. Governador Mangabeira-BA: FAMA.
- KANAN M (2023). Antimicrobial activity of moringa leaf infusion on Escherichia coli isolate from Musca domestica L. Nat Sci J Sci Technol.
- KAROLINE J, Silva DO (2021). Propriedades antioxidantes de metabólitos secundários de algas pardas: uma revisão integrativa.
- KOWALSKI I. (2020), pagno ar. Actividade Antimicrobiana de Flavonoides : uma revisão de literatura.
- LEONÍDIO ARA, Almeida MAS, Filha LG, Andrade MA (2019). Actividade antimicrobiana de Moringa Oleífera Lam. Gestão & Tecnologia Faculdade Delta Ano VIII.
- MOURA MC, Mendonça RA, Paiva PMG, Coelho LCBB (2015). Actividade antibacteriana de preparações de folhas de Moringa oleífera contendo inibidor de tripsina. Arrudea, Recife.
- MORAES GV, Jorge GM, Gonzaga RV (2022). Potencial Antioxidante dos Flavonoides e Aplicações Terapêuticas Antioxidant potential of flavonoids and therapeutic applications Potencial antioxidante de los flavonoides y aplicaciones terapêuticas.
- MORINGA OF, In G, Sun F (2018). Moringa oleífera.
- NASCIMENTO MH (2022). Avaliação do potencial antimicrobiano de extratos de folhas e sementes de Moringa oleífera lam. frente à microrganismos patogênicos. João Pessoa – PB: Universidade Federal da Paraíba.
- REVIEW B. Metabolites, Secondary Plant. 2020;60–72.
- RIBEIRO P, Feitosa B (2023), Pós-graduação P De, Renorbio B, Tecnologia D De, Pós-graduação. potencial antimicrobiano de diferentes extratos das folhas sementes de moringa (Moringa oleífera Lam).
- RODRIGUES TS, Maria A, Lima PC, Batista ME, Danilo P, Lima DO, et al. Rodrigues TS (2018) Revisão Integrativa Resistência Bacteriana a Antibióticos na UTI- Unidade de

ROMANOWSKI FNA, Castro MB, Neris NW(2019). Manual de tipos de estudo. Centro Universitário de Anápolis: Ápolis.

PINTO DS, Santiago KL, Moraes Neto SL, Cisne MF, Braga FGD, Cunha FET(2019). Efeito antimicrobiano do extrato das folhas de MORINGA (Moringa Oleífera) contra Staphylococcus aureus e Escherichia coli. An do 13º Simpósio Lat Am Ciências Aliment

SA'ADU M, Muhammad SM (2022). Antibacterial activity of Moringa oleífera (lam) seed against Streptococcus pneumoniae and Staphylococcus aureus. USci.

SILVA MVS, Padilha RT, Padilha DMM (2021). Benefícios da Moringa oleífera para saúde humana e animal: Revisão de Literatura. Research, Society and Development.

SCHUTZ QC, Truccolo AB (2022). Prevalência do uso de tabaco por adolescentes residentes em município da região sul do país / Prevalence of tobacco use by adolescents living in a city in the south region of the country. Brazilian J Dev.8(1):4944–57.

SILVA M, Tormen L, Bainy EM (2020). Avaliação da capacidade antioxidante e antimicrobiana de extratos de folhas de moringa evaluation of antioxidant and antimicrobial capacity of moringa leaf extracts.

SMITH BE, Orders T, Slate J, Bauldry S, Emrani J, Idassi J,(2020). Proteomics analysis reveal that Moringa oleífera kills Escherichia coli by altering multiple biological processes. South African Journal of Botany.

SMITH BE(2016). Anti-bacterial properties of ethanolic Moringa oleífera leaf extract and proteomic analysis of its effects on Escherichia coli. Appalachian State University.

SOUSA D, Farias M (2017). Atividades Farmacológicas dos Flavonoides: um estudo de revisão.

TEIXEIRA AR, Figueiredo AFC, França RF(2019). Revista Saúde em Foco – Edição nº 11 – Ano:2019;853–75.

TURYARE MD, Mativo JN, Kerich M, Ndiritu AK(2021). Prevalence and socio-demographic determinants of diarrhea among children below 5 years in Bondhere district Somalia. PAMJ.

THIAM S, Diène AN, Fuhrmann S, Winkler MS, Sy I, Ndione JA(2017). Prevalence of diarrhoea and Risk factors among children under five years old in Mbour, Senegal: A cross-sectional study. Infect Dis Poverty.

Tópicos em ciências farmacêuticas.2022.

UNEGBU V, Nkwoemeka N, Okey-Ndeche F. Obum-Nnadi C(2020).Phytochemical and Antibacterial Properties of Moringa oleifera leaf extracts on Escherichia coli and Staphylococcus aureus.Nigerian Journal of Microbiology.

VIEIRA GHF, Mourão JA, Ângelo ÂM, Costa RA, Vieira RHS dos F(2010). Antibacterial effect (in vitro) of moringa oleifera and annona muricata against gram positive and gram negative bacteria. Rev Inst Med Trop Sao Paulo.

VASCONCELOS FR, Rebouças RH, Evangelista-Barreto NS, Sousa OV, Vieira RHSF(2010). Perfil de resistência antimicrobiana de escherichia coli isoladas do açude santo anastácio, ceará,Brasil. Arq. Inst. Biol., São Paulo.

www.cecoma.uem.mz 2018.

WILLIAN E, Monteiro DS, Queiroz GA De, David T, Medeiros S, Luzia A(2021). Estudo fitoquímico do extracto etanólico das folhas de Moringa Oleifera Lam.

7.0APÊNDICE



Fig 6: Planta de Moringa Oleifera



Fig 7: Droga Vegetal de Folhas de Moringa



Figura 8: TSA para Escherchia coli de extracto Hidroetanólico

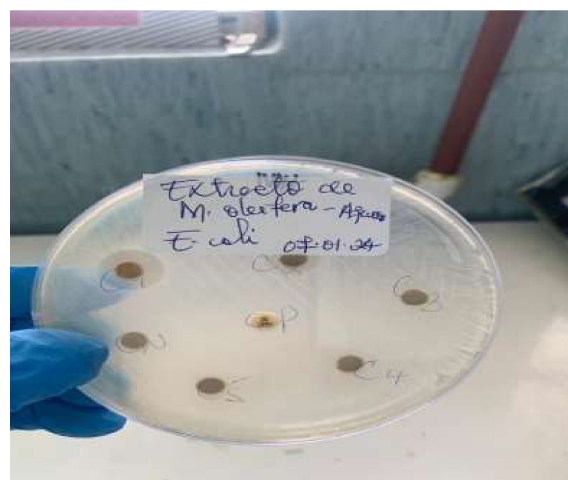


Figura 9: TSA para Escherchia Coli de extracto Aquoso



Figura 10: Presença de flavonóides no extracto Aquoso



Figura 10: Presença de flavonóides no extracto Aquoso



Figura 11: Presença de Fenóis no extracto Hidroetanólico



Figura 12: presença de Taninos no extracto Hidroetanólico