



FACULDADE NOVA ESPERANÇA DE MOSSORÓ

CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

LIVIA ALMEIDA PEREIRA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO AQUOSO DO *Morinda citrifolia*
Linnaeus EM BACTÉRIAS COMUMENTE ENCONTRADAS EM PÉ DIABÉTICO**

Mossoró/RN

2019

LIVIA ALMEIDA PEREIRA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO AQUOSO DO *Morinda citrifolia*
Linnaeus EM BACTÉRIAS COMUMENTE ENCONTRADAS EM PÉ DIABÉTICO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade Nova Esperança
de Mossoró, como exigência para
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientadora: Prof^a Dr^a Karoline Rachel
Teodósio de Melo

Mossoró/RN

2019

P436a Pereira, Livia Almeida.

Atividade antimicrobiana do extrato aquoso do morinda
citrifolia linnaeus em bactérias comumente encontradas em
pé diabético / Livia Almeida Pereira. – Mossoró, 2019.
42f. : il.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Karoline Rachel Teodósio de
Melo.

Monografia (Graduação em Biomedicina) – Faculdade
Nova Esperança de Mossoró.

1. Proteínas. 2. In vitro. 3. Fitoquímica. I. Melo, Karoline
Rachel Teodósio de. II. Título.

CDU 547

LIVIA ALMEIDA PEREIRA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO AQUOSO DO *Morinda citrifolia*
Linneaus EM BACTÉRIAS COMUMENTE ENCONTRADAS EM PÉ DIABÉTICO.**

Monografia apresentada à Faculdade Nova
Esperança de Mossoró como exigência para
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Aprovada em _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA:

Karoline Rachel Teodósio de Melo

Prof^a. Dr^a. Karoline Rachel Teodósio de Melo

ORIENTADORA

Geovan Figueirêdo de Sá Filho

Prof^o. Me. Geovan Figueirêdo de Sá Filho

MEMBRO

Thiago Fernandes Martins

Prof^o. Me. Thiago Fernandes Martins

MEMBRO

Mossoró/RN

2019

Senhor, hoje te agradeço por esta vitória,
pois sem a tua ajuda e o Teu apoio jamais
a teria alcançado!

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus pela vida e por ter me dado força e coragem para concluir essa caminhada árdua.

Aos meus pais, Lindomar e Audeniza, que apesar de toda dificuldade sempre acreditaram e se esforçaram para que esse sonho se tornasse realidade.

Ao meu irmão, Victor Hugo, que mesmo de longe sempre me apoiou com palavras positivas.

Aos meus familiares e amigos, por todo amor, incentivo e apoio incondicional.

Aos meus professores por todo aprendizado. Em especial, a minha orientadora Prof.^a Dr.^a Karoline Rachel que me ajudou nessa pesquisa e teve paciência em todo processo.

Ao professor, Thiago Fernandes, por ter contribuído com seu conhecimento na elaboração desse projeto.

As minhas amigas de caminhada, em especial Ritsa Raila por todo apoio, incentivo e por todos os momentos incríveis que compartilhamos juntas.

Por fim, sou grata a todos que contribuíram de forma direta ou indiretamente na realização desse sonho.

RESUMO

As Doenças crônicas não transmissíveis (DNCTs) incluem doenças cardiovasculares, respiratórias crônicas, diabetes e câncer. A Diabetes Mellitus é considerada um problema gravíssimo nos serviços de saúde pública devido, as complicações ocasionadas pela morbidade da doença. As populações mais carentes têm maior probabilidade de desenvolver essas doenças crônicas. A utilização de plantas medicinais é algo bem característico dessa população, por possuir grande relevância na cultura brasileira. A espécie *Morinda. citrifolia* Linnaeus conhecido popularmente como “noni” é utilizado pela população para diversos fins terapêuticos. O objetivo deste trabalho é avaliar a atividade antimicrobiana do extrato aquoso da planta em bactérias comumente encontradas em pé diabético. A pesquisa é de caráter experimental e exploratória, com abordagem quali-quantitativa tomando como base estudos publicados na literatura. As partes da planta utilizada nessa pesquisa foram coletadas no município de Serra do Mel, RN e foi submetida ao processo de obtenção do extrato para realização da triagem fitoquímica e análise de carboidratos, proteínas e glicose. Os resultados obtidos foram expressos como média dos valores \pm S.D para n experimentos e analisados com o auxílio do programa Microsoft® Excel combinado com ANOVA para múltiplas comparações e geração dos gráficos. A pesquisa foi desenvolvida levando em consideração às prerrogativas do Conselho Federal de Biomedicina (CFBM) preconizadas pela Resolução 198, de 21 de fevereiro de 2011. Nos testes antimicrobianos realizados os extratos não apresentaram atividade antimicrobiana frente as cepas padrão das bactérias *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031).

Palavras-chaves: Proteínas. In vitro. Fitoquímica.

ABSTRACT

Noncommunicable Chronic Diseases (NCDs) include cardiovascular, chronic respiratory disease, diabetes, and cancer. Diabetes Mellitus is considered a very serious problem in public health services due to the complications caused by the morbidity of the disease. Poorer populations are more likely to develop these chronic diseases. The use of medicinal plants is quite characteristic of this population, as it has great relevance in Brazilian culture. The Morinda species, *Linnaeus citrifolia* popularly known as “noni” is used by the population for various therapeutic purposes. The objective of this work is to evaluate the antimicrobial activity of plant aqueous extract in bacteria commonly found in diabetic foot. The research is experimental and exploratory, with a qualitative and quantitative approach based on studies published in the literature. The parts of the plant used in this research were collected in the municipality of Serra do Mel, RN and underwent the process of obtaining the extract for the phytochemical screening and analysis of carbohydrates, proteins and glucose. The results were expressed as mean \pm SD values for n experiments and analyzed with the aid of Microsoft® Excel combined with ANOVA for multiple comparisons and graph generation. The research was developed taking into account the prerogatives of the Federal Council of Biomedicine (CFBM) advocated by Resolution 198 of February 21, 2011. In the antimicrobial tests performed the extracts showed no antimicrobial activity against the standard strains of *Bacillus subtilis* bacteria (ATCC 6633) and *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031).

Keywords: Proteins. In vitro. Phytochemistry.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1: Imagens ilustrativas de deformidades dos pés indivíduos | 21 |
| Figura 2: Imagens ilustrativas do <i>Morinda citrifolia</i> L..... | 23 |
| Figura 3: Utilização do evaporador rotativo para remoção do solvente extrator..... | 27 |
| Figura 4: Análise da MIC ₅₀ pelo método de diluição em ágar Mueller-Hinton em placa de 96 poços..... | 30 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1: Critérios para diagnóstico da DM..... | 19 |
| Tabela 2: Classificação fisiopatológica do pé diabético | 21 |
| Tabela 3: Determinação em porcentagem do rendimento das amostras..... | 27 |
| Tabela 4: Resultados das análises fitoquímicas nos extratos da folha, raiz e caule da planta <i>Morinda citrifolia</i> L..... | 33 |
| Tabela 5: Análise de amido, proteínas e glicose nos extratos da folha, raiz e caule da planta <i>Morinda citrifolia</i> L..... | 34 |
| Tabela 6: Atividade antimicrobiana dos extratos da planta <i>Morinda citrifolia</i> L. contra bactérias patogênicas..... | 34 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|--|----|
| Gráfico 1: Percentual de inibição do crescimento da <i>E. coli</i> na concentração de 10 $\mu\text{g/mL}$ | 35 |
|--|----|

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------------------|-------------------------------------|
| ADA | American Diabetes Association |
| CAD | Cetoacidose diabética |
| CIM | Concentração inibitória mínima |
| DCNTs | Doenças crônicas não transmissíveis |
| DM | Diabetes Mellitus |
| DMI | Diabetes Mellitus tipo I |
| DMII | Diabetes Mellitus tipo II |
| DMG | Diabetes Mellitus gestacional |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| FeCl ₃ | Cloreto férrico |
| HCl | Ácido clorídrico |
| MH | Mueller-Hinton |
| MMII | Membros inferiores |
| SNC | Sistema nervoso central |
| SUS | Sistema Único de Saúde |
| SBD | Sociedade Brasileira de Diabetes |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 14 |
| 1.1. PROBLEMATIZAÇÃO E JUSTIFICATIVA..... | 14 |
| 1.2. HIPOTHESES | 17 |
| 1.3. OBJETIVOS | 18 |
| 1.3.1. Objetivo geral..... | 18 |
| 1.3.2. Objetivos específicos | 18 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 19 |
| 2.1. Diabetes Mellitus | 19 |
| 2.2. Fisiopatologia do pé diabético | 21 |
| 2.3. Exames para rastreamento de pacientes com pé diabético | 22 |
| 2.4. Principais bactérias presentes em feridas de pé diabético | 22 |
| 2.5. Utilização do <i>Morinda citrifolia</i> L. como planta medicinal | 22 |
| 2.6. Toxicidade | 24 |
| 2.7. Atividade Antimicrobiana | 24 |
| 3. CONSIDERAÇÕES METODOLÓGICAS | 26 |
| 3.1. TIPO DA PESQUISA..... | 26 |
| 3.2. LOCAL DA PESQUISA E COLETA..... | 26 |
| 3.3. OBTENÇÃO DO EXTRATO | 26 |
| 3.4. TRIAGEM FITOQUÍMICA..... | 28 |
| 3.4.1. Determinação dos taninos e fenóis | 28 |
| 3.4.2. Determinação dos flavonoides | 28 |
| 3.4.3. Determinação dos alcaloides..... | 28 |
| 3.4.4. Determinação dos esteroides | 29 |
| 3.5. ANÁLISE DE AMIDO, PROTEÍNAS E GLICOSE..... | 29 |
| 3.6. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA..... | 30 |
| 3.6.1. Linhagens microbiológicas..... | 31 |

| | |
|---|-----------|
| 3.7.ANALISES DOS DADOS | 31 |
| 3.8.ASPECTOS ÉTICOS | 31 |
| 3.8.1. Riscos e benefícios..... | 31 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES | 33 |
| 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 37 |
| REFERENCIAS | 38 |

1. INTRODUÇÃO

As Doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) incluem doenças cardiovasculares, respiratórias crônicas, diabetes e câncer (MALTA et al., 2017). A Diabetes Mellitus (DM) é caracterizada pelo excesso de glicose no sangue, resultantes do defeito da secreção ou ação de insulina, sendo considerada uma das principais causas de mortalidade no Brasil (FLOR et al. 2017).

No ano de 2015 o grau de prevalência de DM foi bastante elevado quando comparado ao ano de 2000. Em 2000 foi diagnosticado um total de 151 milhões de pessoas com diabetes, enquanto que, em 2015 o índice aumentou em 8,8% da população mundial, chegando a um total de 415 milhões de pessoas diagnosticadas com DM (BORGES et al., 2018). Estima-se que para o ano de 2035 poderá chegar a um total de 592 milhões de pessoas diagnosticadas com DM (FLOR et al., 2017).

A DM é considerada um problema grave nos serviços de saúde pública, devido, as suas complicações e agravos. Como fatores de riscos incluem tabagismo, sedentarismo, alcoolismo e dietas não balanceadas, afetando principalmente populações mais carentes, devido à falta de acesso imediato aos serviços de saúde e informações para prevenção de doenças (MALTA et al., 2017).

Os pacientes acometidos com DM tem buscado diversas formas de terapias para o tratamento da doença, além da medicina tradicional buscam-se utilizar algumas plantas medicinais que é de reconhecimento dos saberes populares e, muitas das vezes trazem melhorias ou auxiliam em tratamentos convencionais. Entretanto, a prática do uso de plantas medicinais já é bastante comum entre as populações mais carentes para diversos fins terapêuticos, tanto por sua eficácia como também, devido, ao baixo custo (BATISTA et al., 2014).

1.1. PROBLEMATIZAÇÃO E JUSTIFICATIVA

Devido, as complicações e agravos ocasionados pela morbidade dessa doença, pessoas diabéticas estão mais propensas a desenvolver seríssimas complicações, dentre elas as amputações de membros inferiores (MMII). As amputações de MMII são mais comuns entre pessoas diabéticas, onde muitas das vezes essas amputações são precedidas por úlceras nos pés ou pernas. Essas úlceras dão origem ao chamado “Pé diabético”. O Pé diabético surge em

consequência das ulcerações, infecções ou destruição dos tecidos profundos no local da ferida, ocasionados por alguns tipos de bactérias patogênicas (FAJARDO, 2006).

Entre os anos de 2011 e 2016, foram realizadas 102.056 cirurgias de amputação pelo Sistema Único de Saúde (SUS), das quais 70% dessas cirurgias foram em indivíduos com DM e a maioria (94%) foi amputação MMII. Diante disso, é possível observar que as amputações de MMII é mais comum em pacientes diabéticos, muita das vezes devido à falta de acesso, informação e/ou orientação para cuidados preventivos com os pés infeccionados (SANTOS et al., 2018). O pé diabético causa um impacto significativo nos sistemas de saúde pública e/ou privado. Os gastos do SUS para cirurgias de amputações entre os anos de 2008 e 2015 foram de R\$ 416.230.667,00 sendo que 86% foi gasto em procedimentos de urgência, e 12% com procedimentos eletivos (PEIXOTO et al.2017).

Há um grande desafio no acompanhamento e controle da DM. Na medicina tradicional o tratamento da DM é feito por meio de terapia farmacológica e mudança no estilo de vida, incluindo dieta e prática de exercícios físicos. Quando não se têm a resposta esperada na prática de exercícios físicos ou dieta, utiliza-se hipoglicemiantes orais ou insulinas (SBD, 2017-2018).

Atualmente, as plantas medicinais têm sido de bastante utilidade para auxiliar no tratamento de diversas patologias. A utilização de plantas medicinais é uma diversidade característica da cultura de populações humanas que ocupam florestas tropicais e tem um conhecimento sobre o uso dessas plantas para diversos fins terapêuticos, principalmente em regiões em desenvolvimento devido à falta de acesso aos medicamentos industrializados (OLIVEIRA et al., 2010).

Contudo, o uso de plantas medicinais já é bastante comum entre diversos povos principalmente em países subdesenvolvidos. Mediante a realidade do cenário atual esse trabalho se propõe a responder a seguinte pergunta: O extrato aquoso do *Morinda citrifolia* L. tem atividade antimicrobiana?

Mediante tal problemática, percebe-se que no estado do Rio Grande do Norte entre o período de 1996 e 2003 a taxa de mortalidade de pacientes diabéticos cresceu de 64 para 72/100 mil habitantes (Ministério da Saúde, 2005). Nos últimos anos a incidência do DM tem aumentado progressivamente na população mundial e brasileira (CORTEZ et al., 2015).

Em 2013 foi diagnosticado um total de 1.042,27 casos/100 mil habitantes na cidade de Mossoró-RN, enquanto que, a média nacional foi de 2.276,51 casos/100 mil

habitantes. Diante disso, é possível observar que a incidência de pessoas diabéticas na cidade de Mossoró foi bastante elevada nesse período quando comparada à média nacional desse mesmo ano (Ministério da Saúde - DATASUS, 2013).

As plantas medicinais muitas das vezes são as únicas alternativas disponíveis para a população, devido serem comercializadas facilmente e/ou os medicamentos da medicina convencional terem um custo um pouco elevado, o que torna inacessível para muitas pessoas carentes. O comércio de plantas medicinais é bastante favorecido no Brasil e acredita-se que, nem sempre essas pessoas que comercializam essas plantas medicinais têm-se conhecimento sobre a utilização, aplicação, propriedades químicas, farmacológicas, toxicológicas e controle da eficácia e segurança dessas plantas (SOUZA-MOREIRA et al, 2010).

O *Morinda citrifolia* L. é uma planta característica do bioma da caatinga, que cresce em locais úmidos ou secos, tolera salinidade de solo e irrigação com água salobra e que têm sido, utilizada por muitas pessoas como um fitoterápico alternativo da medicina popular principalmente na região Nordeste, para diversos fins terapêuticos, incluindo atividade analgésica, anti-inflamatória, antimicrobiana, anti-helmíntica, hipotensora e antidiabética (COSTA, 2016; COVA, 2016).

Apesar de relatos de casos de benefícios do *Morinda citrifolia* L. entre a população, principalmente populações mais carentes, ele tem sido consumido em larga escala no estado do Rio Grande do Norte (BARBOSA et al, 2017). O presente estudo tem o intuito de mostrar de forma clara e específica os princípios ativos da planta, e sua efetividade contra as bactérias patogênicas comumente encontradas em pé diabético.

1.2. HIPOTEESES

H0- Comprovar cientificamente que o extrato aquoso da folha, raiz e caule do *Morinda citrifolia* L. não tem atividade antimicrobiana frente as cepas de bactérias testadas.

H1- Comprovar cientificamente que o extrato aquoso da folha, raiz e caule do *Morinda citrifolia* L. tem atividade antimicrobiana frente as cepas de bactérias testadas.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo geral

Avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato aquoso da folha, raiz e caule do *Morinda citrifolia* L. em bactérias comumente encontradas em pé diabético.

1.3.2. Objetivos específicos

- Coletar e identificar a planta *Morinda citrifolia* L. (folha, raiz e caule);
- Obter o extrato aquoso da folha, raiz e caule;
- Realizar triagem fitoquímica;
- Analisar a presença de amido, proteínas e glicose;
- Classificar as linhagens microbiológicas das cepas de bactérias utilizadas;
- Determinação da MIC₅₀.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Diabetes Mellitus

A DM é um distúrbio metabólico de origem vascular, caracterizado pela elevação de glicose na corrente sanguínea (hiperglicemia), resultantes de defeito da secreção ou ação da insulina que é produzida no pâncreas, pelas células chamadas β -pancreáticas. A DM pode ser classificada em: Diabetes Mellitus tipo I (DMI), Diabetes mellitus tipo II (DMII), Diabetes Mellitus gestacional (DMG) e outros tipos de diabetes (FERREIRA et al., 2011).

A DM quando descompensada pode provocar disfunção e falência de vários órgãos, especialmente dos rins, olhos, nervos, coração e vasos sanguíneos. Desta forma, quando a DM não é tratada corretamente, ao longo do tempo pode causar no indivíduo acometido: cegueira, insuficiência renal e até mesmo amputações dos membros afetados, e é considerada a principal responsável por gastos expressivos na área da saúde, devido ao alto custo para o tratamento, internações recorrentes e frequentes, redução da mobilidade e também da expectativa de vida dos indivíduos acometidos com a doença (BRASIL,2013).

Os critérios para diagnóstico da DM recomendados pela American Diabetes Association (ADA) e Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD), estão representados na *tabela 1* abaixo:

Tabela 1: Critérios para diagnóstico da DM

| Exame | Normal | Pré-diabetes | Diabetes |
|---|---------------|---------------------|-----------------|
| Glicemia de jejum (mg/dL) | < 100 | 100 a 125 | ≥ 126 |
| Glicemia 2 horas após TOTG com 75 g de glicose (mg/dL) | < 140 | 140 a 199 | ≥ 200 |
| Hemoglobina glicada (%) | < 5,7 | 5,7 a 6,4 | ≥ 6,5 |

Fonte: SBD2017-2018

Há três estágios em que a doença pode se manifestar: leve, moderada e grave. Diante disso, o tratamento é baseado de acordo com o estágio em que se apresenta a doença (FARIA et al., 2018). A DMII quando associada a outras doenças como a hipertensão arterial sistêmica, baixos níveis de colesterol HDL e triglicérides elevados, pode desenvolver complicações agudas e crônicas. A presença concomitante de distúrbio de tolerância à glicose, dislipidemia, hipertensão arterial e excesso de peso ou obesidade caracteriza um complexo transtorno denominado síndrome metabólica (MARCONDES, 2003).

Uma complicação aguda característica da DMII é a hipoglicemia e a cetoacidose diabética (CAD), e quando associada a hipertensão pode causar complicações crônicas macrovasculares (infarto agudo do miocárdio) e microvasculares (retinopatia, nefropatia e neuropatia) (CORTEZ et al., 2015).

Evidentemente a hiperglicemia provoca seríssimas alterações no organismo do paciente diabético, deixando-o mais susceptível a desenvolver doenças que venham a ser ocasionadas pelas complicações decorrentes da diabetes. Como exemplo, pode-se citar a neuropatia diabética periférica, caracterizada como um distúrbio do sistema nervoso central (SNC), que atinge os nervos sensitivos, motores e/ ou autônomos, sendo classificada como uma das complicações crônicas microvasculares mais graves na qual dá origem ao surgimento do pé diabético (CARVALHO et al., 2010).

A neuropatia periférica sensitiva surge em consequência da Diabetes descompensada, quando o sangue começa a se depositar nos vasos e nervos, alterando a sensibilidade e até mesmo provocando irritação, dor e dormência nos membros inferiores (MMII), causando assim, o mal funcionamento dos nervos sensitivos e até mesmo o desenvolvimento de lesões e ulcerações, características do pé diabético. Os sintomas mais frequentes do pé diabético são os formigamentos e a sensação de queimação. Diferentemente da neuropatia sensitiva, a neuropatia motora pode resultar em uma atrofia dos músculos do pé e ocasionar também deformidades nos pés dos indivíduos como, dedos em garra, hálux valgo (joanete), pé cavo (figura 1), proeminências ósseas, calosidades e úlcera plantar. Enquanto que, na neuropatia autônoma os nervos são atingidos, fazendo com que aconteça uma diminuição da

sudorese, onde o pé do indivíduo pode se apresentar na coloração rosado, quente e seco (CARVALHO et al., 2010).

Figura 1: Imagens ilustrativas de deformidades dos pés indivíduos



Legenda: A- Dedos em garra; B- Pé cavo; C- Hálux vago (joanete)

Fonte: CAIAFA, 2011

2.2. Fisiopatologia do pé diabético

O pé diabético pode ser classificado quanto a sua fisiopatologia em: neuropático, isquêmico e misto. O pé neuropático é caracterizado pela perda progressiva da sensibilidade. Já o pé isquêmico caracteriza-se tipicamente por história de claudicação intermitente e/ou dor à elevação do membro (BRASIL, 2016). Na tabela 2, é possível observar a diferença entre o pé diabético neuropático e isquêmico, frente a sua classificação fisiopatológica.

Tabela 2: Classificação fisiopatológica do pé diabético

| Pé neuropático | Pé isquêmico |
|---|--|
| Quente | Frio |
| Normal | Cianótico |
| Pele seca e fissurada | Pele fina e brilhante |
| Deformações | - |
| Insensível a dor | Sensação dolorosa |
| Calosidades | - |
| Pulsos amplos e simétricos | Pulsos diminuídos ou ausentes |
| Edema | Sem edema |
| Úlcera: 1° e 5° metacarpo e calcâneo; Úlceras redondas com anel querotástico periulcerativo; não dolorosa | Úlcera: latero-digital, sem anel querotástico; dolorosas |

Fonte: Adaptada BRASIL, 2016

As lesões e ulcerações que surgem no pé diabético são de difícil cicatrização, podendo causar infecções e seríssimas complicações no local da ferida como, cicatrização deficiente e gangrena, e quando não são tratadas é necessária a amputação do membro infectado (ALMEIDA, 2013).

2.3. Exames para rastreamento de pacientes com pé diabético

O controle de glicemia e o exame diário dos pés são as medidas de prevenção importantes para evitar complicações futuras nos indivíduos diabéticos. O exame permite testar a sensibilidade tátil e dolorosa em diversos pontos do pé. (DUARTE e GONÇALVES, 2011) O diagnóstico pode ser feito por meio da avaliação sensitiva do teste com o monofilamento de 10g de Semmes Weinstein, teste com diapasão clínico de 128 Hz, percepção de picada e reflexo aquileu (BRASIL, 2013).

2.4. Principais bactérias presentes em feridas de pé diabético

As bactérias comumente encontradas em feridas de pé de diabético variam de acordo com o grau de profundidade da infecção, desde infecções leves até infecções mais graves. Em infecções leves é comum encontrar bactérias do tipo Cocos Gram-positivos (*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus*), em infecções moderadas é comum encontrar cocos Gram-positivos e bacilos Gram-negativos (*Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*), já em infecções mais graves são encontrados cocos Gram-positivos, Gram-negativos e bacilos anaeróbicos e aeróbicos como a *Pseudomonas aeruginosa* (CAIAFA,2011).

As bactérias Gram-negativas são menos frequentes de serem encontradas enquanto que, a ocorrência de cocos Gram-positivos são mais frequentes.

2.5. Utilização do *Morinda citrifolia* L. como planta medicinal

O *Morinda citrifolia* L. conhecido popularmente como *noni* (figura 4), é uma planta medicinal da família Rubiaceae e do gênero *Morinda*, que teve sua origem no Sudeste Asiático, e hoje é bastante comercializada no Brasil principalmente na região Nordeste, no entanto tem seu uso proibido pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância e Saúde) conforme descrito na Resolução RDC nº. 278/2005, devido à sua

toxicidade e o uso em excesso pela população e também, devido à falta de segurança para comprovação da eficácia em humanos (MORORÓ et al., 2017; MATOSO et al. 2013).

A utilização de plantas medicinais, como fitoterápicos é bastante comum, principalmente entre populações mais carentes e em países subdesenvolvidos, devido à falta de informação e a dificuldade no acesso aos serviços de saúde públicos e/ou privado. Vale ressaltar, que apesar de não se terem estudos comprovados de sua eficácia em humanos, mas ainda assim o fruto do *noni* é utilizado pela população como um fitoterápico com diversos fins terapêuticos, com intuito de extrair os princípios ativos presentes no fruto da planta, para o tratamento de diversas doenças como: dislipidemias, diabetes, hipertensão, cicatrização, câncer, além de exercer atividade antimicrobiana, analgésica, anti-inflamatória e antioxidante (BARBOSA, 2017).

Figura 2: Imagens ilustrativas do *Morinda citrifolia* L.



Fonte: Autoria própria, 2019

O fruto do *noni* é de formato ovalado, suculento e tem várias sementes por fruto. Quando se apresenta com casca na cor verde está imaturo e na cor amarela está maduro pronta para o consumo (MATOSO et al., 2013). O fruto é composto por 90% de água e os outros 10% são compostos de proteínas principalmente, ácido ascórbico, minerais como, potássio, cálcio e fósforos e diversos fotoquímicos, entre eles podemos citar os micronutrientes fenólicos, ácidos orgânicos e alcaloides e dentre os componentes fenólicos bioativos podemos citar as antraquinonas na qual é considerada a mais importante (TINTINO, 2015; BARROS, 2009) além disso apresenta em sua composição vitamina C e A (LORENA, 2014).

2.6. Toxicidade

Na literatura existe relatos contraditórios a respeito da toxicidade do *noni*, em um estudo realizado por West (2006) relatou um caso em que a paciente teve uma intoxicação após a ingestão do suco do noni, vale salientar que esta paciente esteve em uma região endêmica de hepatite E, em que os sintomas se confundem com os da doença, porém não foram feitos testes para hepatite, então não se pode confirmar que a hepatotoxicidade foi ocasionada pelo suco do *noni*.

Em um estudo analisado por Basar et al. (2010) foi realizado um experimento em ratos, utilizando a folha do *noni* para obtenção do extrato etanólico, onde o *noni* demonstrou atividade cicatrizante e 70% dos animais feridos tratados com o extrato tiveram uma rápida cicatrização, assim como um menor tempo para a epitelização do tecido. E em um outro estudo descrito por Sathishkumar et al. (2012) ao utilizar a folha do *noni* para obtenção do extrato aquoso, foi identificada atividade contra patógenos humano dentre eles, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*.

Portanto, os estudos descritos na literatura sobre a toxicidade do *noni* são bastantes controversos, é importante se ter uma pesquisa melhor comprovada para geração de resultados confiáveis (BARBOSA, 2017).

2.7. Atividade Antimicrobiana

Há alguns estudos na literatura que comprovam a atividade antimicrobiana do *M. citrifolia*. Em um estudo feito por Silveira et al., (2011) utilizando o método de difusão em ágar Mueller-Hinton, através dos resultados obtidos foi possível observar que o fruto do *noni* é capaz de inibir o crescimento de certas bactérias dentre elas, bactérias Gram-positivas como, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*, e bactérias Gram-negativas como, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella sp.* e *Shigella sp.* Acredita-se que isso acontece devido a presença das antraquinonas na sua composição química que desempenham a função de defesa contra diversos patógenos, exercendo principalmente atividade antibacteriana.

Através da obtenção do extrato hidroalcoólico do *noni* em um estudo laboratorial foi possível constatar atividade sensível de bactérias gram-positivas,

principalmente, na cepa do *Staphylococcus aureus*, em um grau moderado do potencial de inibição dessa bactéria (SILVEIRA et al. 2011).

Alguns experimentos publicados na literatura têm demonstrado que o efeito antimicrobiano depende do estágio de maturação e do processamento do fruto, do tipo de extrato utilizado, do clima e da região onde será coletada o fruto, assim como também a composição química das partes a serem utilizadas (BELTRÃO et al., 2014).

3. CONSIDERAÇÕES METODOLÓGICAS

3.1. TIPO DA PESQUISA

Trata-se de uma pesquisa de caráter experimental e exploratória, com abordagem quali-quantitativa tomando como base estudos publicados na literatura. As pesquisas de caráter exploratório têm como objetivo explorar e esclarecer o problema a fim, de fornecer informações mais precisas para o desenvolvimento de pesquisas futuras, sendo construída através de hipóteses ou intuições enquanto que, pesquisas com caráter experimental são consideradas padrão ouro dos estudos e iniciam-se através da formulação do problema e das hipóteses levantadas para determinação das variáveis capazes de influenciá-lo, com intuito de definir as formas de controle e de observação dos efeitos que essas variáveis produz. A pesquisa experimental consiste em determinar um objeto de estudo, podendo ser desenvolvida em laboratórios ou no campo (GIL, 2016).

3.2. LOCAL DA PESQUISA E COLETA

A planta *Morinda citrifolia* L. utilizada nessa pesquisa foi coletada no município de Serra do Mel, Estado do Rio Grande do Norte/Brasil, cuja coordenadas geográficas são: latitude: 5° 10' 12" Sul longitude: 37° 01' 46" Oeste. Área: 616,51 km², equivalente a 1,17% da superfície estadual. Altitude da Sede: 215 metros. A planta foi identificada pelo professor Dr° Leandro de Oliveira Furtado de Sousa, Prof° Adjunto da Universidade Federal Rural do Semi-Árido e Curador do Herbário MOSS.

3.3. OBTENÇÃO DO EXTRATO

Os extratos foram preparados através da folha, caule e raiz do *Morinda citrifolia* L. A análise experimental para obtenção do extrato foi realizada no IV Laboratório Multidisciplinar da Faculdade Nova Esperança de Mossoró – FACENE/RN.

Para obtenção do extrato foi necessário lavar em água corrente todas as partes da planta a serem utilizadas nesse experimento para eliminação das sujidades e em seguida, foram armazenadas na estufa para o processo de secagem durante um período de 11 dias com a temperatura variando entre 30°C à 35°C. Em seguida, foi

realizado a trituração e pesado 50 g da folha, 12 g da raiz e 40 g do caule e colocadas em um Becker para ser realizado o processo de maceração na proporção de 1:10 (amostra:solvente), cujo solvente utilizado como extrator foi o álcool etílico 92,8%. Para a obtenção dos extratos, a amostra com o respectivo solvente ficou em repouso em temperatura ambiente durante um período de 7 dias. Após esse período, os extratos foram filtrados com papel filtro e colocado em um Evaporador rotativo (figura 3) em aquecimento 90°C para remoção do solvente extrator e em seguida, calculado o rendimento das amostras.

Figura 3: Utilização do evaporador rotativo para remoção do solvente extrator



Fonte: Aatoria própria, 2019

Tabela 3: Determinação em porcentagem do rendimento das amostras

| Amostras | Rendimento |
|-----------------|-------------------|
| Folha | 27,39% |
| Raiz | 95% |
| Caule | 33,89% |

Fonte: Aatoria própria, 2019

As amostras ficaram armazenadas durante um período de 7 dias em um dessecador para o processo de secagem em baixa umidade. Em seguida, realizado a pesagem e armazenadas em um recipiente até o momento da reconstituição das amostras para realização dos experimentos.

3.4. TRIAGEM FITOQUIMICA

A triagem fitoquímica foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Silva et al., (2016) com algumas adaptações, para classificação das seguintes classes químicas: taninos e fenóis, flavonoides, alcaloides, esteroides.

Para realização desses experimentos foi removido todo o solvente extrator das amostras e ambas foram reconstituídas com DMSO (Dimetilsulfóxido) em concentração 5% e água destilada, na proporção de 1:2 (amostra:solvente).

3.4.1. Determinação dos taninos e fenóis

Para determinação dos taninos e fenóis foram utilizados três tubos de ensaio, em cada tubo foi adicionado 1 mL de cada extrato, 3 mL de água destilada, duas gotas de solução alcoólica de FeCl_3 a 1%, em seguida foi agitado suavemente com intuito de observar a variação de cor. Para reações positivas esperava-se observar a formação de precipitado com tonalidade azul, o que é indicativo da presença de taninos hidrolisáveis, e verde, a presença de taninos condensados.

3.4.2. Determinação dos flavonoides

Para identificação dos flavonoides foram utilizados 3 tubos de ensaio, em cada tubo foi adicionado 1 mL do extrato, 3 mL de água destilada, 1 mL de ácido clorídrico aproximadamente 0,5 cm de magnésio em fita com 1 mL de ácido clorídrico. Esperava-se em caso de uma reação positiva a formação de coloração que varia de pardo a avermelhada.

3.4.3. Determinação dos alcaloides

Foram utilizados três tubos de ensaio, em cada tubo foi adicionado 1 mL do extrato aquoso, 3 mL de água destilada, 0,5 mL de ácido clorídrico (HCl) e duas gotas do reagente de Bouchardat composto de solução de iodo e iodeto de potássio. Esperava-se que em caso de reação positiva ocorra formação de precipitados amorfos ou cristalinos, com variação de cor de branco ao marrom-alaranjado.

3.4.4. Determinação dos esteroides

Para a detecção dos esteroides foi utilizado três tubos de ensaio, adicionada 1 mL do extrato, 3 mL de água destilada misturando-os a 1 mL de clorofórmio, 1 mL de anidrido acético, agitando suavemente, em seguida foi acrescentado duas gotas de ácido sulfúrico concentrado, agitando-se suavemente para verificação do aparecimento de cor. Em caso de uma reação positiva esperava-se formar uma coloração azul evanescente seguida de verde.

3.5. ANÁLISE DE AMIDO, PROTEÍNAS E GLICOSE

As análises foram realizadas de forma qualitativa simples, com o objetivo de identificar os compostos presentes nas partes do *Morinda citrifolia* L utilizadas no presente estudo.

A análise de amido foi realizada pelo teste de lugol, sendo necessário 500 µl da amostra reconstituída e 2 gotas de lugol (pipeta de pasteur), esperava-se a mudança de coloração como resultado positivo.

Para determinação da quantidade de proteínas os experimentos foram realizados em triplicata para as 3 amostras dos extratos utilizados nesse experimento, no qual os testes foram realizados por meio do método de Bradford utilizando um espectrofotômetro para determinar a quantidade de proteínas presentes nas amostras. Com os resultados obtidos foi realizado o cálculo por meio da equação da reta para definição da quantidade de proteínas presentes nas amostras.

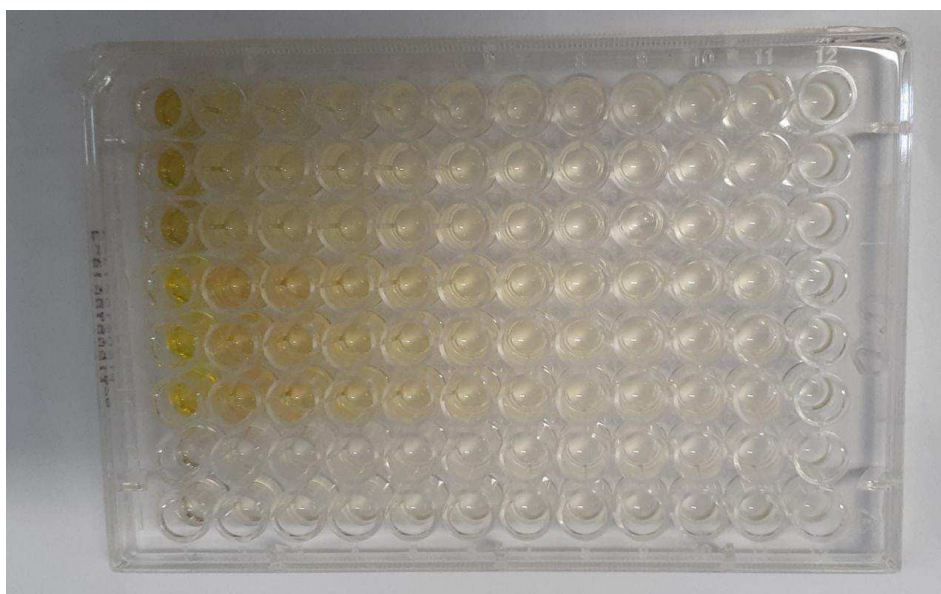
Para a realização do teste de glicose foi necessário utilizar 50 µl das amostras e 1 mL do reagente enzimático de glicose. Esperava-se a formação de coloração rósea em resultados positivos.

3.6. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana do extrato foi analisada por meio da determinação da MIC₅₀ das cepas das bactérias testadas no presente estudo, através do método de diluição em ágar Mueller-Hinton (MH). Os testes foram realizados em placas de microtitulação de fundo plano de poliestireno com 96 poços (figura 4), contendo controle positivo (inibição 100%) que consistiu nas células bacterianas suspensas no meio de cultura contendo 100 µL de Norfloxacin (780 mM) e o controle negativo (crescimento de 100%) consistiu nas células bacterianas incubadas na presença de 100 µL de solução salina 500 mM. A análise foi realizada em triplicata para as amostras da folha e raiz e em duplicata para a amostra do caule, ambas contendo controle negativo e positivo. Os valores de absorbância foram obtidos a 630 nm, para cada amostra foi realizado a leitura em 5 tempos de diferente após 0 (controle) para que os resultados obtidos fossem expressos como média dos valores ± S.D para n experimentos. As leituras foram realizadas usando um leitor de microplacas de absorbância automatizado (Epoch, BioTek Instruments Inc., EUA).

Para obtenção dos extratos, as amostras foram reconstituídas com DMSO concentração 5%, na proporção de 1:2 (amostra:solvente).

Figura 4: Análise da MIC₅₀ pelo método de diluição em ágar Mueller-Hinton em placa de 96 poços



Fonte: Autoria própria, 2019.

3.6.1. Linhagens microbiológicas

Bactérias Gram-positivas como, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) e Gram-negativas *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031), *Escherichia coli* (ATCC 8739) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9028). Essas bactérias foram obtidas do Laboratório de Toxinas Vegetais do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará (UFC).

3.7. ANÁLISES DOS DADOS

Para os ensaios antimicrobianos das bactérias utilizadas no presente estudo, os resultados obtidos foram expressos como média dos valores \pm S.D para n experimentos. As análises dos rendimentos gerados foram realizadas com o auxílio do programa Microsoft® Excel combinado com o programa GraphPad InStat® para múltiplas comparações, geração dos gráficos e determinação da MIC₅₀.

3.8. ASPECTOS ÉTICOS

A pesquisa foi desenvolvida levando em consideração às prerrogativas do Conselho Federal de Biomedicina (CFBM) preconizados pela Resolução 198, de 21 de fevereiro de 2011, descrito no Capítulo I - Dos Princípios Gerais - Art. 1º - A Biomedicina é uma profissão a serviço da saúde da pessoa humana, animal e da coletividade e deve ser exercida sem discriminação de qualquer natureza. (CONSELHO FEDERAL DE BIOMEDICINA, 2011).

3.8.1. Riscos e benefícios

Dos riscos, na pesquisa realizada não são observados riscos à população, visto que foram realizados apenas estudos *in vitro* da planta *Morinda citrifolia* L. e os riscos apresentados ao pesquisador foram mínimos, como, por exemplo, quebra ou dano de vidrarias. Os benefícios, consistiu em realizar uma pesquisa, e por meio desta confirmar cientificamente se o extrato utilizado das partes da planta *M. citrifolia* tem ou não tem atividade antimicrobiana frente as cepas das bactérias testadas como, *S.*

aureus (ATCC 25923), *B. subtilis* (ATCC 6633), *K. pneumoniae* (ATCC 10031), *E. coli* (ATCC 8739) e *P. aeruginosa* (9028).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As amostras da folha, raiz e caule foram submetidas ao processo de caracterização fitoquímica e análise de proteínas, amido e glicose. Para realização da triagem fitoquímica foram realizadas as análises de taninos e fenóis, flavonoides, alcaloides, esteroides. Os resultados obtidos estão compilados na *tabela 4* para melhor assimilação dos dados.

Tabela 4: Resultados das análises fitoquímicas nos extratos da folha, raiz e caule da planta *Morinda. citrifolia* L.

| Extrato | Taninos e fenóis | Flavonoides | Alcaloides | Esteroides |
|--------------|------------------|-------------|------------|------------|
| Folha | ND | Positiva | Positiva | ND |
| Raiz | ND | ND | ND | ND |
| Caule | ND | ND | Positiva | ND |

Legenda: ND (Não detectável).

Fonte: Autoria própria, 2019.

Como demonstrado na tabela 4, foi possível analisar que os compostos esteroides, taninos e fenóis não foram detectados em nenhum dos extratos utilizados no presente estudo. No extrato da folha foi detectado a presença de flavonoides e alcaloides, no caule somente a presença de alcaloides e na raiz não foi possível detectar nenhum composto secundário com os testes realizados.

Para determinação da quantidade de proteínas os valores obtidos foram expressos como média dos valores \pm S.D para n experimentos com a auxílio do programa Microsoft® Excel. Com os resultados obtidos, foi possível observar que as partes da planta utilizada apresentam baixo teor de proteínas sendo que, apenas o extrato da folha se mostrou eficaz na identificação com um percentual de 1,65% de proteínas totais. Para a análise de amido e glicose os resultados obtidos foram não detectáveis para todas as amostras utilizadas. Os resultados estão compilados na tabela 5.

Tabela 5: Análise de amido, proteínas e glicose nos extratos da folha, raiz e caule da planta *Morinda citrifolia* L.

| Extrato | Carboidratos | Proteínas | Glicose |
|---------|--------------|-----------|---------|
| Folha | ND | 1,65% | ND |
| Raiz | ND | ND | ND |
| Caule | ND | ND | ND |

Legenda: ND (Não detectável)

Fonte: Autoria própria, 2019.

Com as análises realizadas não foram possíveis identificar nenhum composto no extrato da raiz. Porém, no estudo realizado por Sibi et al. (2012) foi identificado a presença de fenóis, taninos, esteroides e glicosídeos. O possível motivo pelo qual não foi identificado compostos secundários no extrato da raiz pode ser devido ao fato, de que a raiz não apresentou em sua estrutura compostos químicos em quantidades suficientes nas concentrações testada capazes de ser identificados no presente estudo.

Tabela 6: Atividade antimicrobiana dos extratos da planta *Morinda citrifolia* L. contra bactérias patogênicas

| MIC ₅₀ (µg/mL) | Raiz | Caule | Folha |
|------------------------------|------|-------|-------|
| Gram Positiva | | | |
| <i>S. aureus</i> | ND | 1,44 | ND |
| <i>B. subtilis</i> | ND | ND | ND |
| Gram negativa | | | |
| <i>K. pneumoniae</i> | ND | ND | ND |
| <i>E. coli</i> | - | - | - |
| <i>P. aeruginosa</i> | ND | 1,36 | ND |

Legenda: MIC₅₀ é a concentração inibitória mínima dos extratos estudados que inibiram o crescimento bacteriano de 50%. Os dados são representativos de três experimentos. ND = atividade inibitória não foi detectada. - = atividade inibitória na concentração máxima utilizada (10 µg/mL)

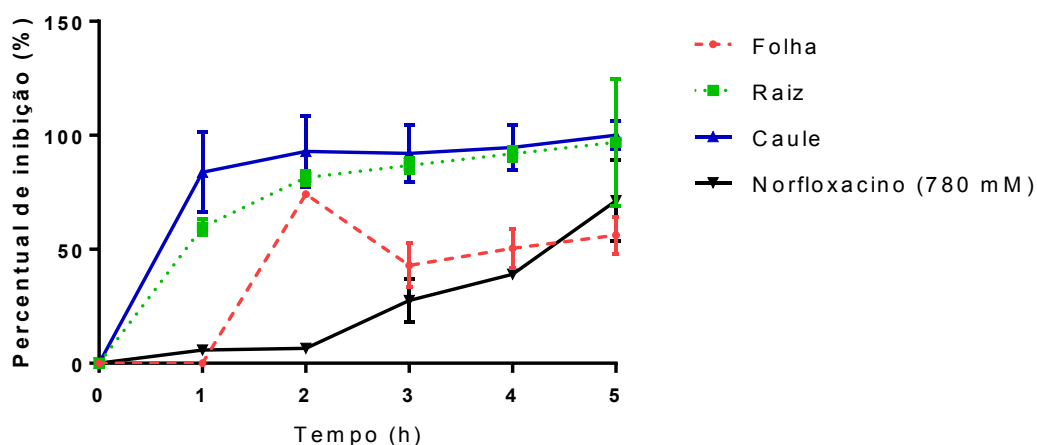
Fonte: Autoria própria, 2019.

Com a determinação da MIC₅₀ foi possível identificar que o extrato do caule se mostrou eficiente na inibição contra as bactérias patogênicas Gram-positiva, *S. aureus* e Gram-negativa *P. aeruginosa*. Como representado na tabela 5, com uma concentração de 1,44 µg/mL do extrato do caule é possível inibir o crescimento bacteriano de 50% da bactéria *S. aureus* e com 1,36 µg/mL é possível inibir o crescimento bacteriano de 50% da bactéria *P. aeruginosa*.

Os testes foram realizados em diferentes concentrações, utilizando a concentração máxima 10 µg/mL dos extratos extraídos da planta, 50 µl da suspensão bacteriana e 50 µl do meio de cultura Mueller-Hinton. Para a *E. coli* não foi possível determinar a MIC₅₀ pois ocorreu inibição para as demais concentrações testadas.

No ensaio de atividade inibitória do extrato da folha, raiz e caule contra as cinco espécies de bactérias foi verificado que apenas a *E. coli* teve o crescimento inibido com todas as amostras testadas (gráfico 1). As bactérias *B. subtilis* e *K. pneumoniae* não teve inibição de crescimento com nenhuma das amostras testadas. A *S. aureus* e *P. aeruginosa* teve o crescimento inibido apenas na amostra do caule.

Gráfico 1: Percentual de inibição do crescimento da *E. coli* na concentração de 10 µg/mL



Fonte: Autoria própria, 2019.

Como descrito no gráfico 1, a amostra do caule inibiu o crescimento de aproximadamente 98% da bactéria enquanto que, a raiz 88% e a folha um percentual aproximado de 50%.

Em um estudo realizado por, Lopes e Almeida (2011) foi analisado a atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico do fruto de *M. citrifolia* em cepas de *S. aureus* e *E. coli*, mas não foi encontrada atividade antibacteriana frente as cepas testadas. Em um outro estudo realizado por Farias et al, (2018) através do extrato hidroalcoólico da casca, polpa e biomassa do fruto, observando atividade antimicrobiana frente as bactérias Gram-negativas e Gram-positivas analisadas.

Ao contrário do que se tem descrito na literatura esse presente estudo contradiz com alguns relatos já publicados. Portanto, vale ressaltar que o presente estudo foi realizado com a obtenção do extrato aquoso da folha, raiz e caule do *Morinda citrifolia* L. o que pode justificar sobre a inibição identificada no estudo realizado por Sibi et al. (2012) realizaram um estudo sobre as propriedades antimicrobianas de extratos metanólicos da folha, raiz e caule de *M. citrifolia*, frente as cepas de *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *Serratia marcescens*, *P. aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*. Com os resultados obtidos, revelaram que os extratos das raízes e folhas apresentaram atividade antimicrobiana significativa. Os autores relataram que o extrato metanólico da raiz apresentou os melhores resultados, principalmente frente as cepas *S. epidermidis* e *P. aeruginosa*, o que não teve resultado eficiente no presente estudo. É válido ressaltar que as bactérias utilizadas no presente estudos foram cepas padrão ATCC e não isolados clínicos, o que pode influenciar nos resultados obtidos.

Apesar de que, esse estudo tenha sido realizado *in vitro* os resultados distanciam-se dos dados já publicados na literatura. Acredita-se, que a planta apresente variação na composição química dos constituintes ativos, incluindo diversos fatores como as condições climáticas e região onde a planta foi cultivada.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados obtidos é possível concluir que nos testes antimicrobianos que foram realizados, as amostras utilizadas não apresentaram atividade antimicrobiana frente as cepas padrão das bactérias *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031) testadas no presente estudo. A *Escherichia coli* (ATCC 8739) apresentou resultado significativo para todas as amostras testadas. A *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9028) apresentou resultado significativo apenas na amostra do caule.

O presente trabalho pode ser utilizado como um ensaio para outros estudos futuros, realizando uma adaptação nos métodos de extração, concentração e solvente utilizado.

Contudo, é necessário mais estudo *in vitro* para busca da comprovação do seu efeito frente as bactérias assim, como também para o uso seguro e benéfico do fruto.

REFERENCIAS

- ALMEIDA, S. A., et al. Avaliação da qualidade de vida em pacientes com diabetes mellitus e pé ulcerado. **Rev. Bras. Cir. Plást.** São Paulo, v. 28, n. 1, p. 142-146, 2013.
- BARBOSA, A. F., et al. Morinda citrifolia: fatos e riscos sobre o uso do noni. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 2, p. 119-249, 2017.
- BARROS, S. P. N. **Caracterização Química e Bioquímica da Polpa e Produtos de Noni (Morinda citrifolia L.)**. 2009. 87f. Dissertação (Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.
- BATISTA, A. A. de M.; OLIVEIRA, C. R. M. Plantas Utilizadas como Medicinais em uma Comunidade do Semiárido Baiano: Saberes Tradicionais e a Conservação Ambiental. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 10, n. 18, 2014.
- BASAR, S., et al. Analgesic and **antiinflammatory activity of Morinda citrifolia L. (Noni) fruit**. **Phytotherapy Research**. [S.l.], v. 24, n. 1, p. 38-42, 2010.
- BELTRÃO, F. A S. SOUZA, K. P. SILVA, J. M. CARACTERIZAÇÃO DE NONI (Morinda Citrifolia L). **Engenharia Ambiental** - Espírito Santo do Pinhal, v. 11, n. 1, p. 38-44, 2014.
- BORGES, D.B.; LACERDA, J. T. Ações voltadas ao controle do Diabetes Mellitus na Atenção Básica: proposta de modelo avaliativo. **Saúde em Debate**, v. 42, p. 162-178, 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica: diabetes mellitus. Ministério da Saúde, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Manual do pé diabético: estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica. Ministério da Saúde, 2016.

CAIAFA, J. S.; et al. Atenção integral ao portador de pé diabético. **J. vasc. bras.** Porto Alegre, v. 10, n. 4, supl. 2, p. 1-32, 2011.

CARVALHO, V. F.; COLTRO, P. S.; FERREIRA, M. C. Feridas em pacientes diabéticos. **Rev Med.** São Paulo. 89(3/4), p. 164-169, 2010.

CONSELHO FEDERAL DE BIOMEDICINA. Regulamenta o novo Código de Ética do Profissional Biomédico. Resolução Nº. 198, de 21 de fevereiro de 2011. PUBLICADO NO D.O.U SEÇÃO 1- p. 215-217, 2011.

CORTEZ, D. N.; et al. Complicações e o tempo de diagnóstico do diabetes mellitus na atenção primária. **Acta paul. enferm.** São Paulo, v. 28, n. 3, p. 250-255, 2015.

COSTA, A. B. **ESTUDO DO PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DO CONSUMO DE Morinda citrifolia Linn (NONI) NOS MUNICÍPIOS DO SUDOESTE GOIANO.** 2016. 90f. Dissertação (Pós-Graduação de Ciências Aplicadas a Saúde) Universidade Federal de Goiás. JATAÍ – GO, 2016.

COVA, A. M. W. **RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DO NONI (Morinda citrifolia L.) AO ESTRESSE SALINO.** 2016. 104f. Tese (Engenharia Agrícola) Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Cruz das Almas, BAHIA. 2016.

Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018 / Organização José Egídio Paulo de Oliveira, Renan Magalhães Montenegro Junior, Sérgio Vencio. São Paulo: Editora Clannad, 2017.

DUARTE, N.; GONÇALVES, A. Pé diabético. **Angiologia e Cirurgia Vasculiar**, [S.l.] v. 7: p. 65-79, 2011.

FAJARDO, C. A importância do cuidado com o pé diabético: ações de prevenção e abordagem clínica. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, [S.l.], v. 2, n. 5, p. 43-58, 2006.

FARIA, V. C.; LIMA, L. M.; PEREIRA, D. A. G. Glycemic index of pre-exercise meal in diabetes mellitus: a systematic review. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 24, n. 5, p. 399-402, 2018.

FARIAS, L.L. et al. Potencial antimicrobiano e avaliação físico-química da casca, polpa e biomassa do noni (*Morinda citrifolia* Linn). **Global Science and Technology**, Rio Verde, v. 11, n. 2, p. 247-255. 2018.

FERREIRA, L. T.; et al. Diabetes melito: hiperglicemia crônica e suas complicações. **Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde**, [S.l.], v. 36, n. 3, 2011.

FLOR, L. S.; CAMPOS, M. R. Prevalência de diabetes mellitus e fatores associados na população adulta brasileira: evidências de um inquérito de base populacional. **Rev. bras. Epidemiologia**, São Paulo, v. 20, n. 1, p. 16-29, 2017.

GIL, A. C., 1946 - **Como elaborar projetos de pesquisa** / Antonio Carlos Gil.-5. Ed.- São Paulo: Atlas, 2016.

LOPES, L. C.; ALMEIDA, J. V. P. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico da fruta *Morinda citrifolia* L. (noni) em cepas de *S. aureus* e *E. coli*. **Higiene Alimentar**, v. 25, p. 162- 169, 2011.

LORENA, A. O. **CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E ATIVIDADE ANTITUMORAL DE POLISSACARÍDEO EXTRAÍDO DO FRUTO DE *Morinda citrifolia* Linn (NONI)**. 2014. 86 f. Dissertação (Pós-Graduação em Química) Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

MALTA, D. C.; et al. Doenças crônicas não transmissíveis e a utilização de serviços de saúde: análise da Pesquisa Nacional de Saúde no Brasil. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 51, 2017.

MARCONDES, J. A. M. Diabete melito: fisiopatologia e tratamento. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba**, [S.l.], v. 5, n. 1, p. 18-26, 2003.

MATOSO, L. M. L., et al. As Características ea Utilização do Noni (*Morinda citrifolia* L.). **Ciência & Desenvolvimento-Revista Eletrônica da FAINOR**, [S.l.], v.6, n.1, p.42-50, 2013

MORORÓ, A. V. T. P.; et al. *Morinda citrifolia* (noni): uma revisão dos seus efeitos biológicos. **Revinter**, [S.l.], v. 10, n. 02, p. 46-61, 2017.

Ministério da Saúde - DATASUS, Sistema de Informação da Atenção Básica, 2013.

OLIVEIRA, G. L.; et al. Plantas medicinais utilizadas na comunidade urbana de Muribeca, Nordeste do Brasil. **Acta Bot. Bras.** São Paulo, v. 24, n. 2, p. 571-577, 2010.

PEIXOTO, A. M. et al. Prevalência de amputações de membros superiores e inferiores no estado de Alagoas atendidos pelo SUS entre 2008 e 2015. **Fisioterapia e pesquisa**. São Paulo, v. 24, n. 4, p. 378-384, 2017.

SANTOS, K. P. B.; et al. Carga da doença para as amputações de membros inferiores atribuíveis ao diabetes mellitus no Estado de Santa Catarina, Brasil, 2008-2013. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 1, 2018.

SATHISHKUMAR, G., et al. Phyto-synthesis of silver nanoscale particles using *Morinda citrifolia* L. and its inhibitory activity against human pathogens. **Colóides e superfícies B: biointerfaces**, [S.l.], v. 95, p. 235-240. 2012.

SIBI, G. et al. Phytoconstituents and their influence on antimicrobial properties of *Morindacitrifolia* L. **Research Journal of Medicinal Plant**, [S.l.], v.6, n.6, p.441-448, 2012.

SILVA, C. T.; et al. ANÁLISE FITOQUÍMICA E ENSAIO TOXICOLÓGICO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Morinda citrifolia* (NONI). **Revista Brasileira Multidisciplinar**, [S.l.], v. 19, n. 1, p. 34-39, 2016.

SILVEIRA, L. M. S., et al; Atividade antibacteriana de amostras de fruto do noni (*Morinda citrifolia* L.-Rubiaceae) vendidas em feiras livres de São Luís, Maranhão. **Rev Saud & Cien.** v. 2, n.1, p. 31-37, 2011.

Sistema Nacional de Vigilância em Saúde: relatório de situação: Rio Grande do Norte / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

Souza-Moreira, T. M.; et al. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Sociedade Brasileira de Farmacognosia, v. 20, n. 3, p. 435-440, 2010.

TINTINO, S. R., et al. Atividade antimicrobiana e efeito combinado sobre drogas antifúngicas e antibacterianas do fruto de *Morinda citrifolia* L. **Acta biol. Colomb.** v. 20, n.3 p.193-200, 2015.

WEST, B.J. Mineral variability among 177 commercial noni juices. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**. v. 57 ,p. 556-558, 2006.