



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS DO AMBIENTE**

GABRIELA ORTEGA COELHO THOMAZI

**INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ESPÉCIES DE
PLANTAS DO CERRADO CONTRA BACTÉRIAS RESPONSÁVEIS POR
INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO**

PALMAS-TO

MARÇO/2010

GABRIELA ORTEGA COELHO THOMAZI

INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ESPÉCIES DE PLANTAS
DO CERRADO CONTRA BACTÉRIAS RESPONSÁVEIS POR INFECÇÕES DO TRATO
URINÁRIO

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente da Universidade Federal do Tocantins, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências do Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Aparecido Osdimir Bertolin.

PALMAS-TO

2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca da Universidade Federal do Tocantins
Campus Universitário de Palmas

T465i Thomazi, Gabriela Ortega Coelho
Investigação da atividade antibacteriana de espécies de plantas do Cerrado contra bactérias responsáveis por infecções do trato urinário. - Palmas, 2010.
68 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Tocantins, Curso de Pós- Graduação em Ciências do Ambiente, 2010.
Orientador: Prof. Dr. Aparecido Osdimir Bertolin.

1. Plantas medicinais. 2. Atividade antibacteriana 3. Infecção urinária. 4. *Stryphnodendron adstringens*. 5. *Hancornia speciosa*. I. Título.

CDD 581.634

Bibliotecário: Paulo Roberto Moreira de Almeida
CRB-2 / 1118

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

TERMO DE APROVAÇÃO

GABRIELA ORTEGA COELHO THOMAZI

INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ESPÉCIES DE PLANTAS DO CERRADO CONTRA BACTÉRIAS RESPONSÁVEIS POR INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no curso de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente, da Universidade Federal do Tocantins, pela seguinte banca examinadora:

Orientador: Prof. Dr. Aparecido Osdimir Bertolin

Prof. Programa de Mestrado em Ciências do Ambiente, UFT

Prof. Dr. Marcio Galdino dos Santos

Prof. Programa de Mestrado em Ciências do Ambiente, UFT

Prof^ª. Dr^ª. Maria Cristina da Silva Pranchevicius

Prof^ª do curso de Medicina, UFT

PALMAS, 26 de março de 2010

DEDICATÓRIA

A Deus e N. Senhora, pela sabedoria, força e perseverança. “Lâmpada para os meus pés é a tua palavra, e luz para o meu caminho” (Salmos 119:105).

Aos meus pais, Lígia e João, e irmãos, Verônica e Arthur, com amor e gratidão, pelo exemplo, incentivo e dedicação incondicionais.

Ao meu esposo, Norton, pelo amor, incansável apoio e, principalmente, paciência e compreensão.

Obrigada por fazerem parte da minha vida!

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Aparecido Osdimir Bertolin, pela oportunidade, orientação, amizade, confiança, bom-humor e disposição.

À Universidade Federal do Tocantins, pela oportunidade de realização de curso de mestrado.

Aos professores Dr. Marcio Galdino e Dr^a. Maria Cristina por gentilmente aceitarem fazer parte da banca.

Ao Instituto de Biologia e Saúde Pública do Campus de Porto Nacional/TO, em particular, Gisllene e Luciana, pelas sugestões e auxílio no laboratório de microbiologia.

Ao Laboratório de Fitoquímica do Campus de Porto Nacional/TO, em especial, ao prof. Dr. Marcio Galdino, Eduardo e Patrícia, pela disposição e colaboração na obtenção dos extratos vegetais.

Aos técnicos do Laboratório Multiusuário I do Campus de Palmas/TO, Ediana, Joelma, João, Luciene, Lourdes, Márcia, Michele e Thiago, pela cooperação e boa vontade na parte prática da pesquisa.

Às biomédicas, Jacqueline e Roumayne, pela ajuda ao trabalho, fornecendo as amostras bacteriológicas identificadas para os testes.

Ao prof. Msc. Rodney, pelas contribuições na identificação das espécies vegetais.

Ao prof. Msc. MacDavid, pela paciência, tempo dispensado e ajuda na análise estatística.

Aos professores Msc. Olortegui e Torquato (*in memorian*) pelo incentivo, amizade e apoio.

À amiga Francisca, que mais aturou os meus problemas dissertativos.

Ao Adão, Alexandre e Rosildo pela boa vontade, colaboração, idéias e dúvidas solucionadas.

A todos os colegas do curso e professores pela amizade, aprendizado e incentivo. Juliana, Francisca, Regiane, Daniela, Eduardo e Carlos Eduardo, em especial.

À Secretaria Acadêmica, em particular à Ana Claudia, pela confiança e flexibilizações, sem elas seria impossível a realização deste trabalho. E aos demais colegas pela compreensão com as minhas necessidades: Elson, Erisvan, Francisco, Jani, José Inácio, Kendi, Liz, Mariana, Paulo, Rogério, Sabryna e Silvana.

Aos amigos, amados e necessários, Elson, Isa, Kendi, Liz e Lizia, por tudo.

Às amigas distantes, mas nunca longe do coração, Carolina, Helen Tatiane e Regiane.

Aos meus sogrinhos queridos, Clair e Carmelinda, pela presença e comida maravilhosas.

Aos cunhados (cuzitos), Camila, Clairton, Janaina, Júnior, Natascha, Tompson e Wilson; e aos sobrinhos, Manuela e Heitor, pelas horas de descontração e amizade.

Aos amigos e familiares, presentes ou não, que contribuíram de alguma forma para a conclusão deste trabalho.

A todos vocês, manifesto meu profundo apreço.

“O que fizemos apenas por nós mesmos morre conosco. O que fizemos pelos outros e pelo mundo permanece e é imortal”.

Albert Pike

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	x
LISTA DE FIGURAS E QUADROS.....	xi
LISTA DE SÍMBOLOS	xiii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	3
2.1 Geral.....	3
2.2 Específicos	3
3 REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1 HISTÓRICO SOBRE PLANTAS MEDICINAIS.....	4
3.2 PLANTAS MEDICINAIS	6
3.2.1 Plantas medicinais com atividade antimicrobiana	9
3.3 FITOTERAPIA.....	10
3.4 BRASIL	10
3.4.1 Biodiversidade brasileira.....	12
3.5 BARBATIMÃO [<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville]	14
3.6 MANGABEIRA (<i>Hancornia speciosa</i> Gomez)	20
3.7 INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO	23
3.8 RESISTÊNCIA BACTERIANA	26
3.9 ENSAIOS DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	27
4 METODOLOGIA.....	29
4.1 EXTRATO VEGETAL	29
4.1.1 Seleção das espécies de plantas em estudo	29

4.1.2 Extrato etanólico das espécies vegetais.....	29
4.1.3 Preparo das soluções dos extratos para os testes microbiológicos.....	30
4.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	30
4.2.1 Material Microbiológico	30
4.2.2 Métodos microbiológicos.....	32
4.2.3 Preparo dos inóculos bacterianos	32
4.2.4 Preparo do meio de cultura.....	32
4.2.5 Controles	33
4.2.6 Preparo do controle positivo (CP).....	33
4.2.7 Método da difusão em ágar pela técnica do poço	33
4.2.8 Determinação da Concentração Inibitória Mínima	34
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
6 RESULTADOS	37
6.1 DIFUSÃO EM ÁGAR - TÉCNICA DE POÇOS.....	37
6.1.1 Casca do <i>S. adstringens</i>	38
6.1.2 Folha do <i>S. adstringens</i>	39
6.1.3 Casca da <i>H. speciosa</i>	40
6.1.4 Folha da <i>H. speciosa</i>	42
6.1.5 Todos os extratos.....	43
6.2 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA	44
7 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	47
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

LISTA DE ABREVIATURAS

AA: Atividade antibacteriana

AMH: Ágar Mueller Hinton

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BGN-NF: Bacilo Gram-negativo não-fermentador

BHI: Brain-Heart Infusion

CIM: Concentração Inibitória Mínima

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CN: Controle negativo

CP: Controle positivo

DMSO: Dimetilsulfóxido

ITU: Infecção do trato urinário

MMA: Ministério do Meio Ambiente

MS: Ministério da Saúde

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards

OMS: Organização Mundial da Saúde

RENISUS: Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS

SUS: Sistema Único de Saúde

WHO: World Health Organization

LISTA DE FIGURAS E QUADROS

Figura 01: Desenho extraído de *Botanicon. Plantarum Historieae...*, de Adamum Lonicerum. Podem-se observar nesta figura vários grupos coletando ervas, obtendo os extratos e administrando aos pacientes.

Figura02: Cobertura vegetal do bioma Cerrado.

Figura 03: *Strypnodendron adstringens* (Mart) Coville. A) folha B) casca C) caule.

Figura 04: Árvore e folhas do *S. adstringens*.

Figura 05: Árvore e folhas da *Hancornia speciosa*.

Figura 06: Esquema do trato urinário.

Figura 07: Desenho da difusão em ágar pela técnica de poços: placa com ágar Mueller Hinton recebe o inóculo bacteriano; confecção dos poços e posterior adição das soluções do controle negativo (DMSO), controle positivo (antibiótico) e 100, 200 e 300 mg/mL dos extratos. CN – controle negativo; CP – controle positivo; 1 – 100 mg/mL; 2 - 200 mg/mL; 3 - 300 mg/mL.

Figura 08: Esquema da microplaca para a determinação da CIM.

Figura 09: Fotografia do teste de difusão em ágar pela técnica de poços - extrato da casca do *S. adstringens* contra *S. aureus*. CN – controle negativo; CP - controle positivo; 1 – 100mg/mL; 2 – 200mg/mL; 3 – 300 mg/mL.

Figura 10: Diâmetro dos halos de inibição (mm) do extrato da casca do *S. adstringens* para as bactérias testadas.

Figura 11: Diâmetro dos halos de inibição (mm) do extrato das folhas do *S. adstringens* para as bactérias testadas.

Figura 12: Fotografias do teste de difusão em ágar com o extrato da casca da *H. speciosa*. A) Halo de inibição contra *S. sp*. B) Crescimento da *E. sp* ao redor do poço. C) Halo de inibição contra *S. epidermidis*.

Figura 13: Diâmetro dos halos de inibição (mm) do extrato da casca da *H. speciosa* para as bactérias testadas.

Figura 14: Diâmetro dos halos de inibição (mm) do extrato das folhas da *H. speciosa* para as bactérias testadas.

Figura 15: Comparação da atividade antibacteriana entre os extratos das folhas e cascas do *S. adstringens* e *H. speciosa* nas concentrações de 100, 200 e 300 mg/mL com o controle positivo.

Figura 16: Comparação entre os diâmetros dos halos de inibição bacteriana entre os extratos das folhas e cascas do *S. adstringens* e *H. speciosa*.

Figura 17: Fotografia das microplacas. A) Microplaca com os extratos, antes da aplicação da resazurina B) Microplaca logo após a aplicação da resazurina C) Microplaca com resazurina após incubação, onde nota-se a presença da coloração rosa para os poços onde houve crescimento bacteriano e azul onde houve inibição do crescimento.

Quadro 01: Espécies bacterianas utilizadas no trabalho.

Quadro 02: Moda dos resultados da CIM dos extratos testados em mg/mL.

LISTA DE SÍMBOLOS

% - Por cento

± - Mais ou menos

µg –Micrograma

µg/mL –Micrograma por mililitro

µL - Microlitro

g - Grama

h - Hora

L – Litro

mg – Miligrama

mg/L - Miligrama por litro

mg/mL- Miligrama por mililitro

min - Minuto

mL - Mililitro

mm – Milímetro

°C – Graus Celsius

RESUMO

Estudos que investigam as propriedades antimicrobianas de plantas medicinais aumentaram consideravelmente nos últimos anos, refletindo a mudança de cenário em relação às espécies vegetais de uso terapêutico, que foram gradativamente substituídas por medicamentos sintéticos, mas que retornam com interesse aumentado, tanto pela sociedade, profissionais de saúde e pesquisadores, reproduzindo o panorama atual de valorização da biodiversidade e dos conhecimentos tradicionais. O *Stryphnodendron adstringens* e a *Hancornia speciosa*, árvores características do Cerrado, têm várias aplicações na medicina tradicional no tratamento de enfermidades como feridas, hemorragias, diarreias, cérvico-vaginites, infecções, úlceras, entre outras. O potencial terapêutico destas plantas constitui uma das alternativas para os problemas relacionados às infecções do trato urinário, que estão entre as doenças infecciosas mais comuns na prática clínica, constituindo o tipo mais corriqueiro de infecção hospitalar, podendo levar a complicações como problemas renais e até a morte. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana dos extratos da casca e das folhas do *Stryphnodendron adstringens* e da *Hancornia speciosa* contra bactérias isoladas de amostras positivas de urocultura, pelo método da difusão em ágar pela técnica de poços e pela determinação da concentração inibitória mínima. Na difusão em ágar, os extratos da casca do *S. adstringens* e das folhas da *H. speciosa* apresentaram o maior potencial antibacteriano, seguidos da casca da *H. speciosa* e folha do *S. adstringens*. Nesta técnica, as bactérias Gram-positivas mostraram-se mais sensíveis. Na determinação da CIM, os extratos da casca e das folhas do *S. adstringens* e das folhas da *H. speciosa* foram mais ativos para as bactérias Gram-negativas. Os extratos foram testados contra os microrganismos: *Citrobacter sp.*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella ornithinolytica*, *K. oxytoca*, *K. ozaenae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* e *S. sp.* A partir dos resultados obtidos, verificou-se que os extratos da casca do *S. adstringens* e das folhas da *H. speciosa* possuem grande potencial antimicrobiano, destacando-se como espécies vegetais promissoras para a elaboração de produtos terapêuticos e sugerindo a necessidade de estudos complementares no sentido de isolar as substâncias responsáveis por estas características e a realização de testes toxicológicos para viabilizar sua utilização em humanos.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Atividade antibacteriana. Infecção urinária. *Stryphnodendron adstringens*. *Hancornia speciosa*.

ABSTRACT

Studies which investigate antimicrobial properties of the medicinal plant increased considerably in recent years, reflecting the changing of scenario in relation to plant species of therapeutic use, which were gradually replaced by synthetic drugs, but that return with increased interest, both by society, professional health and researchers, producing the current scene of valuation of the biodiversity and traditional knowledge. The *Stryphnodendron adstringens* and *Hancornia speciosa*, characteristic trees of Cerrado, have several applications in traditional medicine in the treatment of diseases as wounds, hemorrhages, diarrhea, cervical vaginitis, infections, ulcers, among others. The therapeutic potential of these plants is one of the alternatives for the problems related to the urinary tract infections, which are between the more common infectious illnesses in the practical clinic, since the most frequent type of hospital infection, which could lead to complications such as renal problems and even death. This work was to investigate the antibacterial activity of excerpts of bark and leaves of *Stryphnodendron adstringens* and *Hancornia speciosa* against isolated bacteria from positive samples of urine culture, by agar well diffusion method and the minimum inhibitory concentration. In the agar diffusion the extracts from the bark of *S. adstringens* and leaf of *H. speciosa* had the highest antimicrobial activity, followed by the bark of *H. speciosa* and leaf of *S. adstringens*. In this technique the Gram-positive bacteria were more sensitive. In the determination of M.I.C. (Minimum Inhibitory Concentration) the extracts of the bark and leaf of *S. adstringens* and leaf of *H. speciosa* were more active for the Gram-negative bacteria. The extracts were tested against these microorganisms: *Citrobacter sp.*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella ornithinolytica*, *K. oxytoca*, *K. GNB*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* and *S. sp.* From the results obtained it was verified that the extracts from the bark of *S. adstringens* and leaves of *H. speciosa* have great antimicrobial potential, standing out as promising plant species for the development of therapeutic products and suggesting the necessity for complementary studies to isolate the responsible substances for these characteristics and the accomplishment of toxicological tests to allow its use in human being.

Key-words: Medicinal plants. Antibacterial activity. Urinary infections. *Stryphnodendron adstringens*. *Hancornia speciosa*.

1 INTRODUÇÃO

Muitas plantas são utilizadas como medicamentos pelas populações no tratamento de várias doenças, principalmente de infecções, impelidas pela necessidade, custo econômico e orientadas pelas heranças culturais. Pesquisas que avaliam as propriedades antimicrobianas de espécies vegetais utilizadas na medicina popular revelam excelentes oportunidades para o desenvolvimento de novos produtos medicinais (SIMÕES, 2007).

Nos últimos anos, investigações do potencial antimicrobiano de plantas medicinais e de fitoterápicos, têm aumentado consideravelmente, refletindo a mudança de cenário em relação às espécies vegetais de uso terapêutico, que foram gradativamente substituídas por medicamentos sintéticos, mas que retornam com interesse aumentado, tanto pela sociedade, profissionais de saúde e pesquisadores, reproduzindo o panorama atual de valorização da biodiversidade e dos conhecimentos tradicionais (DI STASI, 2007; FERRO, 2006; TOMAZZONI *et al.*, 2006).

O *Stryphnodendron adstringens* e a *Hancornia speciosa*, árvores características do Cerrado, têm várias aplicações na medicina tradicional no tratamento de enfermidades como feridas, hemorragias, diarreias, cérvico-vaginites, infecções, úlceras, entre outras (SILVA JÚNIOR, 2004; SIMÕES, 2007). A partir destas informações, estudos anteriores demonstraram a atividade antimicrobiana dos extratos destas plantas (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002; GONÇALVES *et al.*, 2006; ORLANDO, 2005; SOUZA, 2007; SOUZA *et al.*, 2007a,b).

O potencial terapêutico das plantas constitui uma das alternativas para os problemas relacionados ao aumento da resistência de patógenos, principalmente de bactérias, a múltiplos antimicrobianos e pela crescente incidência de infecções microbianas (ORLANDO, 2005).

As infecções do trato urinário (ITU) estão entre as doenças infecciosas mais incidentes na prática clínica, sendo o tipo mais comum de infecção hospitalar, responsáveis pelo aumento da mortalidade e morbidade, bem como do tempo de internação, podendo levar a complicações como problemas renais e até a morte. Além disso, há o crescimento de uropatógenos resistentes à terapia antimicrobiana recomendada, compondo um sério problema no combate a doenças infecciosas como as infecções do trato urinário (ANVISA, 2004; BAIL, *et al.*, 2006).

Neste sentido, o desenvolvimento de novos antimicrobianos face ao crescente número de microrganismos resistentes a múltiplos antibióticos e pela importância clínica das infecções do trato urinário, é inegável a necessidade de encontrar novas substâncias para serem empregadas no combate aos uropatógenos, como alternativa para ampliar o arsenal de compostos ativos, além de constituírem uma opção terapêutica de baixo custo e de eficácia e segurança comprovadas.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Investigar a atividade antibacteriana de alguns extratos de plantas contra bactérias responsáveis por infecções do trato urinário.

2.2 Específicos

- Avaliar a atividade antibacteriana dos extratos da casca e das folhas de *Stryphnodendron adstringens*.
- Analisar a atividade antibacteriana dos extratos da casca e das folhas de *Hancornia speciosa*.
- Investigar o potencial antibacteriano dos extratos de *Stryphnodendron adstringens* e *Hancornia speciosa* contra bactérias isoladas de amostras positivas de urocultura.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 HISTÓRICO SOBRE PLANTAS MEDICINAIS

O emprego de plantas medicinais com finalidade terapêutica está vinculado à história da humanidade e passou por diferentes paradigmas ao longo do desenvolvimento da medicina (FERRO, 2006).

Utilizadas de forma empírica pelas primeiras sociedades, que compreenderam a existência de outras propriedades da flora além da alimentação, como por exemplo, o seu poder de cura e a sua toxicidade, o conhecimento sobre as propriedades terapêuticas das plantas chegaram aos dias de hoje com ampla utilização por grande parte da população mundial devido aos saberes tradicionais que foram passados de geração em geração (FERRO, 2006; LEITE, 2009; TOMAZZONI *et al.*, 2006).

No Brasil, a história da utilização de plantas como instrumento de cura apresenta influências de várias culturas. Africanos, índios e mestiços foram os grandes curandeiros do período colonial. O conhecimento que tinham das ervas atrelou-se ao acervo europeu da medicina popular, contribuindo de diversas formas nos usos de sementes, ervas, raízes, até mesmo nos nomes populares das plantas e suas principais utilidades, tanto como medicamento como alimento (FERRO, 2006; SOUZA, 1986; TOMAZZONI *et al.*, 2006).

Como complementa Wissenbach (1998):

As ervas utilizadas para o tratamento das doenças, irradiadas por meio das receitas da medicina popular, algumas delas depurativas, outras sudoríparas, outras simplesmente simbólicas, encontravam-se espalhadas pelas matas, ou eram cultivadas em canteiros, e suas qualidades terapêuticas, algumas vezes conhecidas mediante a observação do comportamento de animais, vinham de ensinamentos imemoriais.

O cultivo, a colheita e as propriedades terapêuticas das plantas demandavam um saber próprio que envolvia não só o discernimento de qualidades específicas de folhas, raízes e caules, como também a guarda de preceitos que deveriam presidir a preparação de garrafadas.

Neste contexto, é possível constatar que os conhecimentos sobre a flora local fundiram-se aos conhecimentos trazidos por outros povos e foram transmitidos e aprimorados ao longo dos tempos, comprovando que em diversas épocas e culturas o homem conviveu com os

recursos naturais locais e especialmente com as plantas, onde encontrou uma fonte terapêutica necessária para aumentar suas chances de sobrevivência (DI STASI, 2007).



Figura 01: Desenho extraído de *Botanicon. Plantarum Historieae...*, de Adamum Lonicerum. Podem-se observar nesta figura vários grupos coletando ervas, obtendo os extratos e administrando aos pacientes (LONITZER, 1565 *apud* LÓPEZ-MUÑOZ *et al.*, 2006).

A partir deste conhecimento, no Brasil, assim como em todo o mundo, a fitoterapia foi a peça essencial do arsenal terapêutico até meados do século XIX. Contudo, com o advento da industrialização, urbanização, avanço da tecnologia e elaboração de fármacos sintéticos, a crença popular de que o tratamento à base de plantas alcançava resultados pouco satisfatórios foi cedendo lugar, paulatinamente, a produtos biológicos de origem animal e a isolados de plantas medicinais dotados de ação farmacológica mais específica, que atraíam as pessoas com a promessa de cura rápida e total. Desta forma, houve aumento da utilização de medicamentos sintéticos por parte da população em geral, deixando-se de lado, em parte, o conhecimento tradicional das ervas medicinais, que foram vistas como atraso tecnológico, levando à substituição da prática de sua utilização na medicina caseira (FERRO, 2006; TOMAZZONI *et al.*, 2006).

Com o desenvolvimento de novas práticas terapêuticas a partir do advento da Segunda Guerra Mundial e com as experiências de Pasteur (início da bacteriologia) e Fleming (descoberta da penicilina), as indústrias farmacêuticas se adaptaram aos métodos de produção em massa de substâncias e o isolamento de substâncias ativas com ações específicas (FERRO, 2006; IANNI, 2005).

Atualmente, este panorama começa a ser modificado. Os produtos terapêuticos vegetais ressurgem com as tendências globais de desenvolvimento sustentável, valorização da biodiversidade e dos conhecimentos tradicionais. Mesmo que as drogas sintéticas ainda representem a maioria dos medicamentos utilizados pela população, as plantas medicinais e os fitoterápicos têm conseguido espaço cada vez maior na farmácia caseira (FERRO, 2006; TOMAZZONI *et al.*, 2006).

O aumento do uso de medicamentos baseados em espécies vegetais pela população tem refletido, em muitos países, no aumento do interesse dos médicos e de outros profissionais de saúde, além de professores e pesquisadores da área. Este interesse tem permitido uma intensa inclusão das práticas tradicionais e populares de saúde, especialmente de seus produtos dentro da prática diária da medicina oficial (DI STASI, 2007).

Assim, na construção histórica do conhecimento sobre o uso de plantas medicinais, a prática médica passou a ter como aliado um arsenal terapêutico composto por plantas, ou derivados destas, que surgiram a partir do conhecimento intuitivo da medicina popular e solidifica-se na medicina moderna pela incorporação do conhecimento científico e da tecnologia (LEITE, 2009).

3.2 PLANTAS MEDICINAIS

Plantas medicinais, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), são espécies vegetais a partir das quais produtos de interesse terapêutico podem ser obtidos e usados na espécie humana como medicamentos ou como fonte de compostos ativos e de seus precursores para síntese química-farmacêutica, independente de a planta ser utilizada pela população como medicinal ou não (DI STASI, 2007; FERRO, 2006).

Dentre todos os conceitos, o mais reconhecido entre pesquisadores é aquele que se refere ao conhecimento popular e ao uso que os seres humanos fazem das espécies vegetais. As plantas como fontes inesgotáveis de novas substâncias passam a constituir potenciais

plantas medicinais a partir do momento que possuem tradição de uso em uma população ou comunidade, com capacidade de prevenir, aliviar ou curar enfermidades (CARVALHO *et al.*, 2007; DI STASI, 2007).

A medicina tradicional, baseada nas teorias, crenças e experiências indígenas que passam de geração em geração, e que incorporam produtos de origem vegetal, animal, mineral, entre outros, demonstrou sua confiabilidade e eficiência ao longo dos tempos e é considerada o ponto de partida para o conhecimento científico. A partir dela, supõe-se que foram desenvolvidas mais de 70% dos medicamentos derivados de plantas. A constante integração entre estes saberes contribui muito para a aquisição de novos conhecimentos, fornecendo provas adicionais da segurança e eficácia de uso destes produtos, auxiliando os pesquisadores na busca da cura para diversas doenças (ORLANDO, 2005; WHO, 2000; WHO, 2008).

A história e a relação das espécies vegetais nas sociedades antigas e atuais, abordando a forma como diferentes grupos humanos interagem com a vegetação, desde o seu uso e classificação, preservando sua cultura, conhecimento tradicional e diversidade biológica são estudados pela etnobotânica. Este tipo de estudo tem oferecido o apoio para diversos estudos básicos e aplicados, inclusive como ferramenta para o descobrimento de novas drogas, como é o caso do uso da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*) como cicatrizante de úlceras estomacais, a pata-de-vaca (*Bauhinia forticata*) empregada no combate ao diabetes mellitus, entre muitas outras (ELISABETSKY; SOUZA, 2007; FERRO, 2006).

A escolha de produtos terapêuticos naturais de origem vegetal para estudo não se baseia apenas nos usos tradicionais observados, mas também na abordagem randômica, onde as espécies vegetais são coletadas ao acaso para triagens fitoquímicas e farmacológicas; em estudos de comportamento animal com primatas, que avalia a utilização de metabólitos secundários por animais com a finalidade de combater doenças ou controlá-las; e a abordagem quimiotaxonômica ou filogenética, a qual consiste na seleção de espécies cuja composição química esteja correlacionada com seus efeitos biológicos, a partir da ocorrência de uma dada classe química de substâncias em um gênero ou família (MACIEL *et al.*, 2002; SOUZA, 2007).

Os constituintes vegetais a partir dos quais as plantas se relacionam com o mundo, como uns dos mais importantes mecanismos de sobrevivência e de perpetuação de uma espécie, são classificados como metabólitos primários e secundários. Os primeiros participam do metabolismo primário vegetal que compreende os processos de fotossíntese e respiração. Os segundos caracterizam o efeito terapêutico ou tóxico de uma espécie sobre outro

organismo vivo, além de determinar eficácia no tratamento de uma doença ou no alívio de um sintoma. Neste sentido, o termo composto secundário passa a ser intitulado como princípio ativo quando empregado dentro do contexto da farmacologia e da medicina, e há também quem empregue o termo “produto natural” para designar estes compostos (DI STASI, 2007; FERRO, 2006; NICIOLI, 2006).

Outro ponto importante quando o assunto é produto natural é o enfoque toxicológico, onde uma planta medicinal ou um fitoterápico não apresenta somente efeitos imediatos e facilmente correlacionados com a sua ingestão, mas lembrar, principalmente, os efeitos que se instalam em longo prazo e de forma assintomática, como os carcinogênicos, hepatotóxicos e nefrotóxicos (LAPA *et al.*, 2007).

A compreensão de que as plantas são portadoras de substâncias bioativas benéficas, mas que também podem causar efeitos adversos não é muito acolhida pela população em geral, que tem sempre a idéia de que “planta não faz mal porque é natural”; daí a importância da utilização de produtos que tenham eficácia e segurança comprovadas. Ressaltando que a maioria dos venenos é derivada de plantas e que uma substância pode ter tanto efeito terapêutico como nocivo, dependendo, inclusive, da dose utilizada (ORLANDO, 2005).

De acordo com estudo realizado por Tomazzoni *et al.* (2006) sobre a utilização de plantas medicinais pela comunidade do município de Cascavel – PR, averiguou-se a existência de uma falsa idéia de que tudo o que é “natural é bom”, de que “planta não faz mal à saúde”. A partir do cruzamento das informações obtidas junto à população entrevistada com dados bibliográficos, foi constatado que aproximadamente 80% das plantas citadas como de uso terapêutico por aquela população, apresentaram algum tipo de toxicidade ou contra-indicação de uso, demonstrando a relevância de estudos toxicológicos.

Nesta direção, o uso de plantas com fins terapêuticos necessita de orientação apropriada, dada a incidência de espécies com registro de toxicidade e contra-indicações de uso. Assim como as plantas são remédios poderosos e eficazes, o risco de intoxicação causada pelo seu uso indevido deve ser sempre levado em consideração. A observância das dosagens prescritas e o cuidado na identificação precisa do material utilizado podem evitar uma série de acidentes (TOMAZZONI *et al.*, 2006).

Devido a estes problemas, a OMS recomenda a integração da medicina tradicional no sistema de saúde oficial, garantindo um nível mais alto de segurança e acompanhamento mais adequado dos pacientes, uma vez que nos países em desenvolvimento, onde mais de um terço da população carece dos medicamentos essenciais, a administração de remédios tradicionais alternativos e eficazes poderia melhorar o acesso à atenção da saúde (OMS, 2005).

Neste caminho, para que os produtos medicinais tenham plena aceitação pela comunidade médica e para que a fitoterapia se integre à medicina científica, devem atender a critérios de eficácia, segurança e qualidades exigidas para os medicamentos considerados convencionais, segundo legislações e normas específicas (FERRO, 2006).

3.2.1 Plantas medicinais com atividade antimicrobiana

Assim como o emprego de produtos terapêuticos de origem vegetal, a convivência da espécie humana com os microrganismos é marcada por episódios que remontam a história da humanidade. Como as pragas do Egito e a hanseníase, nos relatos bíblicos, os surtos de peste bubônica, no período medieval, o tifo, a sífilis, a varíola, a cólera, a tuberculose, entre muitas outras, que fazem parte de diferentes momentos da história, e assim até os dias de hoje com as mais variadas doenças infecciosas, com a emergência de novas e com o surgimento de microrganismos resistentes (UJVARI, 2003).

As infecções estão entre as principais doenças tratadas pela utilização de plantas. Estudos que analisam as propriedades antimicrobianas de espécies vegetais utilizadas na medicina popular revelam excelentes oportunidades para o desenvolvimento de novos produtos medicinais (SIMÕES, 2007).

Deste modo, a atividade antimicrobiana é um dos efeitos biológicos mais pesquisados nas plantas medicinais. Reis (2006) testou a atividade do abacateiro (*Persea gratissima*) contra várias espécies de bactérias, incluindo *E. coli*, *S. aureus*, *N. gonorrhoeae*, e fungo *Candida*, demonstrando a eficiência desta planta como antimicrobiano. Pretto (2005) através da triagem com plantas da flora catarinense determinou atividade contra a bactéria *Streptococcus agalactiae* e a levedura *Cryptococcus neoformans* do guarandi (*Calophyllum brasiliense*). Taveira (2007) verificou atividade significativa sobre *S. aureus* do pau-santo (*Kielmeyera coriacea*). Campos (2006) analisou o potencial de *Piper solmsianum* contra *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *B. cereus* e *S. agalactiae*, além dos fungos, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum canis*, entre outros.

O crescente problema da resistência de patógenos a antimicrobianos e o aumento da incidência de infecções bacterianas, têm impulsionado a pesquisa com novas plantas medicinais para a descoberta de novos agentes antimicrobianos (CAMPOS, 2006).

3.3 FITOTERAPIA

A fitoterapia é a prática que utiliza produtos terapêuticos de origem vegetal devidamente avaliados. São classificados como medicamentos por possuírem eficácia e segurança de uso determinadas, assim como controle de qualidade padronizado. No entanto, estas preparações vegetais padronizadas consistem de uma mistura complexa de uma ou mais substâncias contidas na planta, sendo que, de modo geral, os princípios ativos responsáveis por sua ação farmacológica são desconhecidos, que é a sua característica fundamental (DI STASI, 2007).

Diferencia-se da medicina tradicional e popular porque seus medicamentos precisam ser devidamente preparados e prescritos em obediência a determinada legislação e controle, e envolve espécies vegetais ativas normalmente usadas na medicina popular ou tradicional, e que produzem efeitos colaterais ou tóxicos muito menores do que aqueles produzidos por substâncias isoladas ou por compostos químicos de origem sintética (DI STASI, 2007).

3.4 BRASIL

O acesso aos medicamentos oficiais no Brasil é limitado por questões econômicas, o que conduz o paciente a buscar o tratamento de sua doença e o alívio de seus sintomas em procedimentos mais baratos ou gratuitos, como é o caso da utilização de produtos medicinais de origem vegetal retirados diretamente da natureza (DI STASI, 2007).

Como assinala Di Stasi (2007):

Essa situação é o reflexo do que ocorre no Brasil com um todo e de forma mais grave em algumas localidades, onde o acesso à assistência médica é pequeno ou mesmo inexistente. Nessas localidades, as plantas medicinais geralmente representam a única possibilidade terapêutica acessível, e o diagnóstico depende também do sistema de medicina popular ou tradicional.

Considerando este quadro e que a fitoterapia constitui uma opção terapêutica eficaz, de baixo custo e culturalmente apropriada, várias prefeituras municipais têm estruturado em seus sistemas de saúde programas de uso de plantas medicinais e fitoterápicos (REIS *et al.*, 2007).

Como por exemplo, o “Programa Fitoterápico Farmácia Viva no Sistema Único de Saúde (SUS) Betim”, que foi incorporado ao sistema de saúde pública de Betim-MG, com o intuito de fomentar o uso racional de plantas medicinais na atenção primária à saúde resgatando o conhecimento popular e alicerçado nos conhecimentos científicos. De acordo com relatos dos profissionais envolvidos no projeto, houve uma maior adesão dos pacientes ao tratamento, além do baixo custo e da redução de efeitos colaterais (GUIMARÃES *et al.*, 2006).

Segundo trabalho desenvolvido por Tomazzoni *et al.* (2006), visando subsidiar a implantação dos fitoterápicos na rede pública de saúde, constatou que a utilização de plantas na terapia popular é bastante difundida e presente, e que as plantas medicinais representam fator importante para a manutenção das condições de saúde, sendo parte de um saber local preservado e utilizado.

A partir destes dados, é possível visualizar que a utilização de plantas medicinais de forma apropriada é um grande passo nesta área e vem de encontro às determinações da OMS, que tem incentivado a valorização das terapias tradicionais, sendo estas reconhecidas como recurso terapêutico vantajoso nos programas de atenção primária à saúde, além de valorizar e utilizar os saberes tradicionais (DI STASI, 2007; TOMAZZONI *et al.*, 2006).

A implantação de políticas e programas que fortaleçam o desenvolvimento científico e tecnológico dos fitoterápicos na atenção básica à saúde pode diminuir custos para o sistema de saúde brasileiro, além de implicar no vínculo e no respeito aos conhecimentos tradicionais, podendo ser o resultado de uma parceria que rompe com a dicotomia entre os sistemas formal e informal de saúde (ROSA *et al.*, 2008).

No Brasil, duas importantes políticas foram estabelecidas em relação às plantas medicinais e aos fitoterápicos (CARVALHO *et al.*, 2007). A primeira foi a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS, aprovada através da Portaria Ministerial MS/GM nº 971 de 03 de maio de 2006, que contempla sistemas médicos complexos e recursos terapêuticos, os quais são também denominados pela OMS de medicina tradicional e complementar/alternativa, dentre elas as plantas medicinais e a fitoterapia (BRASIL, 2006).

A segunda foi a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que recomenda a implantação de políticas públicas de saúde baseadas na prescrição e no uso de plantas medicinais e de fitoterápicos dentro do sistema de saúde no país, com o objetivo de “garantir à população brasileira acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional” (BRASIL, 2007).

Com o intuito de nortear estudos e pesquisas que possam subsidiar a elaboração da lista de plantas medicinais e fitoterápicos a serem disponibilizados para uso da população, com segurança e eficácia, o Ministério da Saúde divulgou em fevereiro de 2009 a Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS (RENISUS), onde estão listadas as plantas medicinais que apresentam potencial para gerar produtos de interesse ao SUS (MS, 2010).

Além disso, fitoterápicos produzidos a partir de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*) e guaco (*Mikania glomerata*) estão sendo fornecidos pelo SUS desde 2007, indicados para gastrites e úlceras e para tosses e gripes, respectivamente. Estes produtos foram pactuados em 13 (treze) unidades federativas: BA, DF, GO, MT, PB, PR, RJ, RN, RO, RS, SC, SE e TO (MS, 2010).

Ambas as políticas apresentam em suas diretrizes o incentivo à pesquisa e ao desenvolvimento com relação ao uso de plantas medicinais e fitoterápicos que possam ser disponibilizados com qualidade, segurança e eficácia à população, priorizando a biodiversidade do país. Estas medidas apontam para maior valorização e reconhecimento deste recurso terapêutico como alternativa para a população brasileira (CARVALHO *et al.*, 2007).

3.4.1 Biodiversidade brasileira

O Brasil abriga cerca de 10% da flora mundial, proporcionando à humanidade produtos com propriedades extraordinárias, como os curares (relaxante muscular e anestésico), a emetina (amebicida), a pilocarpina (tratamento para glaucoma), entre outros. É um país com muitas potencialidades, considerando que apenas menos de 1% das espécies vegetais brasileiras foram analisadas sob o ponto de vista químico e farmacológico (FERRO, 2006; GUERRA; NODARI, 2007).

De acordo com Guerra e Nodari (2007), as plantas são uma fonte considerável de produtos naturais biologicamente ativos, constituindo-se na principal forma de obtenção de biomoléculas para a produção de medicamentos. De tal modo que, vários produtos naturais de plantas têm sido utilizados como fornecedores do princípio ativo, ou medicamentos semi-sintéticos, ou sintéticos baseados em compostos secundários de plantas (GARCIA, 1995).

O Brasil está entre os países chamados “megadiversos” por possuir uma variedade de biomas que reflete a riqueza da flora e fauna brasileiras, tornando-as as mais diversas do

mundo, com mais de 20% do número total de espécies do planeta e com a mais diversa flora do mundo, correspondendo a 22% do total mundial. Muitas destas espécies são endêmicas e apresentam grande relevância na economia mundial (MMA, 2009a).

Considerado uma das savanas de maior biodiversidade do planeta, o Cerrado, é classificado como *hotspot* mundial, ou seja, uma área com grande concentração de espécies endêmicas e altamente ameaçadas em função da grande expansão da agricultura e da intensa exploração local de produtos nativos (KLINK; MACHADO, 2005).

Cobrindo 25% do território nacional e com uma extensão de cerca de 2 milhões de km², este ecossistema está distribuído nas regiões Centro-Oeste e Nordeste, mas também existem Cerrados periféricos nos Estados do Amapá, do Pará, de Roraima, do Maranhão, do Tocantins, de São Paulo e do Paraná (MMA, 2009b).

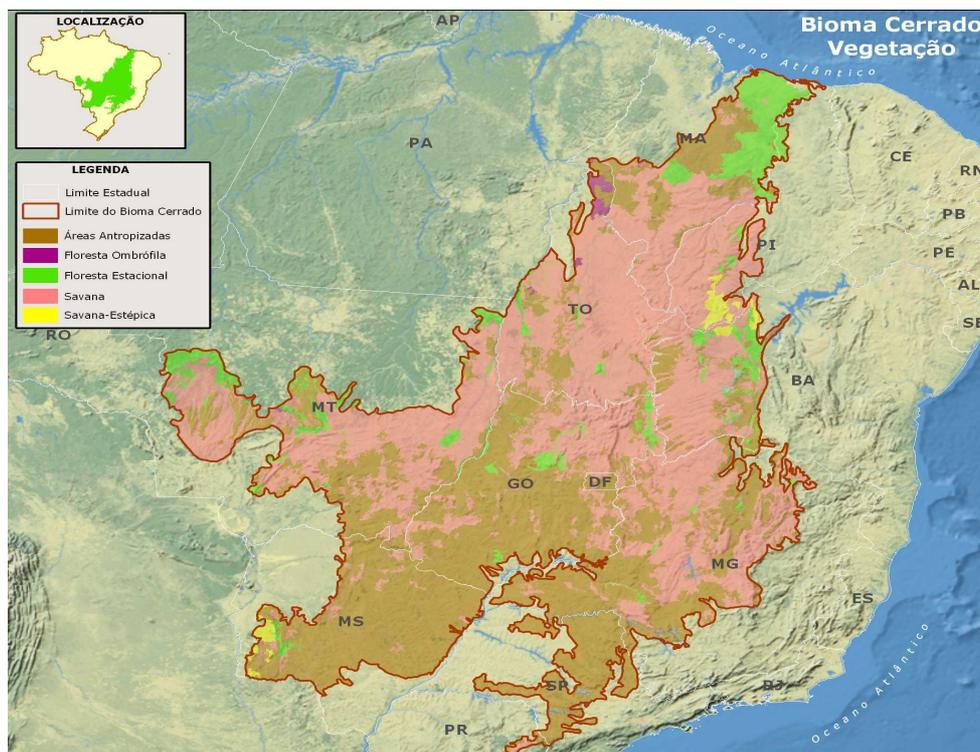


Figura 02: Cobertura vegetal do bioma Cerrado (MMA, 2009).

Segundo Maia (2008), o Cerrado ocupa uma posição de destaque não só por suas extensas áreas como também pela sua heterogeneidade vegetal, em grande parte desconhecida. Trata-se de um complexo vegetacional que apresenta fisionomias que englobam formações florestais, savânicas e campestres.

Estudos voltados para a identificação de plantas úteis deste ecossistema ainda são poucos, principalmente quando comparadas à sua grande diversidade e à área ocupada. No

entanto, cerca de 40% do bioma já foi devastado e, atualmente, esta é a vegetação em maior risco de extinção no país. É preciso considerar que os recursos naturais oferecidos por ele, uma vez extintos, estarão indisponíveis às futuras gerações. Entre estes, pode-se considerar o recurso terapêutico oferecido pelas plantas medicinais (NICIOLI, 2006).

Na velocidade em que ocorre o fenômeno de extinção das espécies vegetais, um enorme número de plantas com propriedades medicinais corre o risco de desaparecer antes de seu valor ser reconhecido, o que torna ainda mais urgente intensificar os investimentos nesta área (GARCIA, 1995).

Além dos aspectos ambientais, o Cerrado apresenta grande importância social, pelo fato de muitas populações sobreviverem de seus recursos naturais, como etnias indígenas, comunidades quilombolas, ribeirinhos, entre outros, fazendo parte do patrimônio histórico e cultural brasileiro, detendo um conhecimento tradicional de sua biodiversidade (MMA, 2009a). Conhecimentos estes que, através da etnobotânica, são resgatados e utilizados para a valorização da flora deste bioma no processo de desenvolvimento econômico (MAIA, 2008).

A perda de conhecimento sobre o uso tradicional das plantas pelas populações de ambientes devastados é pouco discutida. Com a depredação de seu meio, muitas comunidades migram, normalmente para centros urbanos, rompendo com o fluxo de conhecimento adquirido ao longo do tempo. Esta situação deve ser pensada e evitada como uma forma de conservar além do patrimônio natural também conservar o conhecimento destas comunidades sobre o uso de plantas medicinais (GUERRA; NODARI, 2007).

O conhecimento da diversidade existente e o estabelecimento de estratégias de utilização de plantas medicinais se constituem em uma área de pesquisa relativamente recente no país, ao mesmo tempo em que o número de pesquisadores é reduzido se comparado com o número de espécies que necessitam de estudos (GUERRA; NODARI, 2007).

3.5 BARBATIMÃO [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville]

Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville possui outras sinônimas botânicas, como: *Stryphnodendron barbadetiman* (Vell.) Forrero, *Stryphnodendron barbadetiman* Mart., *Mimosa barbadetiman* Vell, *Stryphnodendron obovatum* Menth. É conhecido popularmente como barba-de-timão, barbatimão, borãozinho-roxo, casca-da-virgindade, uabatimô, ibatimô e paricarana (ALMEIDA *et al.*, 1998; LORENZI, 2000; PANIZZA, 1997).

Esta espécie vegetal conhecida como barbatimão-verdadeiro, é indicada como a espécie principal, classificada na divisão *Angiospermae*, classe *Magnoliopsidae*, ordem *Fabales*, família *Leguminosae*, sub-família *Mimosoideae*, gênero *Stryphnodendron* (GLASENAPP, 2007).

O nome barbatimão deriva do termo indígena “Iba Timó”, que significa árvore que aperta (PANIZZA, 1997).

É encontrado com frequência em fitofisionomias de cerrado típico (*stricto sensu*), campo-sujo e cerradão, estando distribuído nos estados da Bahia, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo, Tocantins e no Distrito Federal. Sua floração ocorre de setembro a novembro e a frutificação de novembro a junho (ALMEIDA *et al.*, 1998; LORENZI, 2000; GLASENAPP, 2007).

A árvore apresenta casca áspera, fissurada, com altura de 4-7 m, com tronco de 20-30 cm de diâmetro. Sua madeira é pesada, dura, bastante durável quando em condições adversas (ALMEIDA *et al.*, 1998; LORENZI, 2000; PANIZZA, 1997). De crescimento lento, é bem resistente a locais secos, não exigindo muita água (PANIZZA, 1997).

As flores são organizadas em espigas, pequenas e numerosas, tem floração escura e discreta. O fruto é uma vagem lenhosa, curta, grossa, carnosa, com 8 a 10 cm de comprimento. Suas sementes são achatadas e envoltas por uma faixa escura. Cresce no Cerrado de maneira isolada e o desenvolvimento das mudas no campo é lento (PANIZZA, 1997; NICIOLI, 2006).

A madeira é empregada na construção civil, obras expostas, lugares úmidos, marcenaria e torno por possuir cerne vermelho, duro e com fibras muito reversas. A casca é rica em tanino, contém cerca de 20 a 30%, sendo utilizada na medicina popular, no curtume de couro e muito procurada por prostitutas, daí o nome casca-da-virgindade, devido ao efeito de contração da mucosa vaginal. As favas são consideradas tóxicas ao gado vacum. Pode ser utilizada no paisagismo por ser uma planta ornamental, na arborização de ruas estreitas, sendo também recomendada para plantios mistos em áreas degradadas de preservação permanente. No pantanal é uma importante forrageira, importante para a dieta do gado. Da cinza da madeira é extraída a decoada, substância utilizada como substituta da soda cáustica para a fabricação de sabão caseiro. Por cocção, produz matéria corante vermelha, que é empregada para tingir tecido (ALMEIDA *et al.*, 1998; GLASENAPP, 2007; LORENZI, 2000).

O *S. adstringens* está presente na RENISUS, onde as espécies vegetais que apresentam potencial medicinal de interesse ao SUS estão relacionadas (MS, 2010).

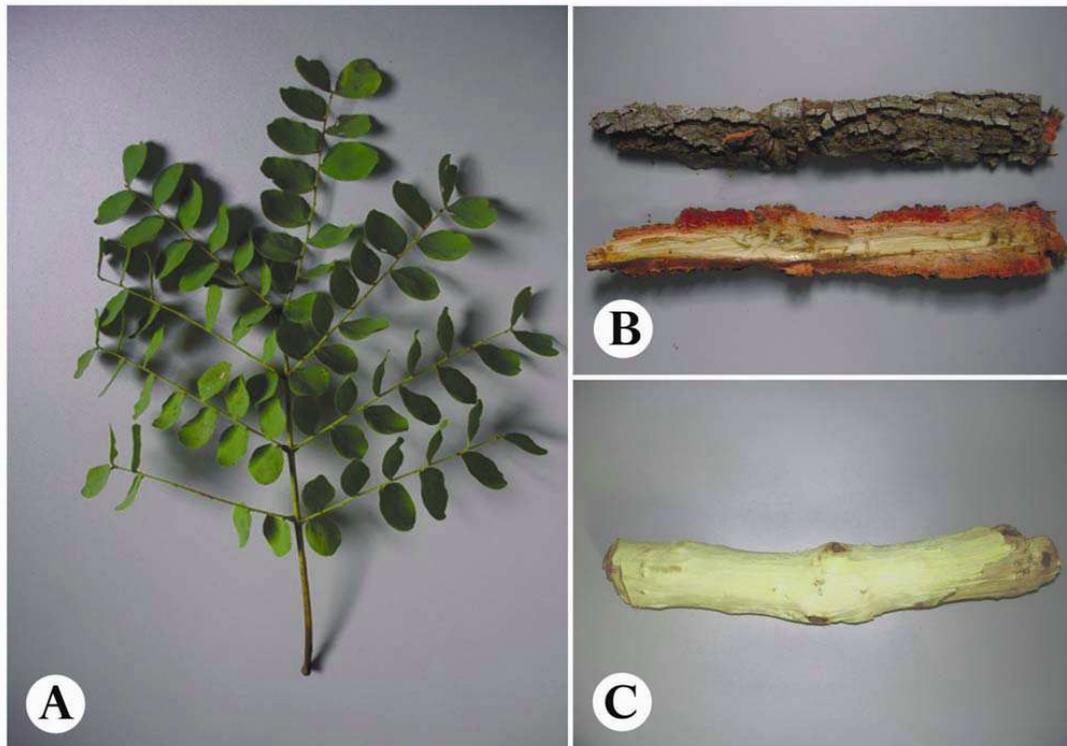


Figura 03: *Strypnodendron adstringens* (Mart) Coville. A) folha B) casca C) caule (MACEDO *et al.*, 2007).

Tem sido explorado tradicionalmente por suas propriedades medicinais e no aproveitamento de tanino. A prática tradicional da extração da casca, feita de forma desordenada e sem critério de escolha das árvores, vem colocando a espécie sob ameaça de extinção caso a expansão agrícola e urbana intensifiquem-se. A coleta é desordenada e sem nenhum critério de escolha. Apesar do grande potencial de exploração extrativista vegetal das espécies do Cerrado, estes recursos estão sendo utilizados de forma indiscriminada (BORGES FILHO; FELFILI, 2003; SOUZA, 2007).

Na medicina popular, a casca é utilizada para combater afecções escorbúicas, gonorréia, hérnia, feridas hemorrágicas, diarreia, hipertensão, reumatismo, feridas, queimaduras e problemas renais. É cicatrizante e adstringente, hemostático, paralisante de hemoptises, hemorragias uterinas e vaginais. A casca em decocção é anti-séptica, usada para combater gastrite e dores de garganta. A garrafada da casca do caule (macerada) combate a úlcera, inflamações e hemorróidas. Também é empregada para o tratamento de peles oleosas e corrimento vaginal (LORENZI, 2000; NICIOLI, 2006; ORLANDO, 2005; PANIZZA, 1997; SANTOS, MELLO, 2007; SOARES *et al.*, 2008).



Figura 04: Árvore e folhas do *S. adstringens* (LORENZI, 2000).

Dentre os constituintes químicos do *S. adstringens* podem ser citados os alcalóides, esteróides, estilbenos, flavonóides, terpenos, inibidores de proteases (como a tripsina) e taninos (GLASENAPP, 2007; PANIZZA, 1997; SOARES *et al.*, 2008).

Análises fitoquímicas de *S. adstringens* mostram que além dos compostos acima, substâncias como as chalconas e os compostos triterpenóides possuem ação antiinflamatória pela inibição da formação ou ação de mediadores químicos; as saponinas são responsáveis pelas atividades hemolítica, antiviral, antiinflamatória; as catequinas, depsídeos e depsidonas apresentam propriedades antioxidantes antivirais, antitumorais, analgésicas e antipiréticas (GLASENAPP, 2007; MACEDO *et al.*, 2007).

Até o momento não foi elucidada a precisa identidade dos princípios ativos de *S. adstringens* (REBECCA *et al.*, 2003). Numerosas pesquisas têm sido executadas de forma a avaliar suas propriedades medicinais e identificar os princípios ativos responsáveis (GLASENAPP, 2007).

Acredita-se que as propriedades medicinais estejam relacionadas aos altos teores de taninos (GLASENAPP, 2007), componentes majoritários do barbatimão, e que têm sido associados aos efeitos antimicrobianos (SOARES *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2007a,b; SOUZA, 2007).

Os taninos exercem distintas atividades biológicas, tais como: anti-séptica, antimicrobiana, anti-hemorrágica, antidiarréica, cicatrizante e antiinflamatória (ALVES et al., 2000; GLASENAPP, 2007; NICIOLI, 2006; REBECCA *et al.*, 2002; REBECCA *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2002; SANTOS; MELLO, 2007).

A atividade farmacológica destes compostos está relacionada com três propriedades: ação antioxidante e seqüestradora de radicais livres; capacidade de formar complexos com outras moléculas tais como proteínas e polissacarídeos; e a formação de complexos com íons metálicos, como o ferro, alumínio, cálcio, cobre, entre outros (HASLAM, 1996; SOARES *et al.*, 2008).

Em relação ao mecanismo de ação sobre os microrganismos há três suposições: inibição de enzimas dos microrganismos e/ou ligação com o substrato destas enzimas por meio da ação sobre a membrana celular, modificando seu metabolismo; complexação dos taninos com íons metálicos, diminuindo a disponibilidade desses íons, que são essenciais ao metabolismo microbiológico (ORLANDO, 2005).

Os taninos são metabólitos secundários de natureza fenólica, em geral polifenóis de alto peso molecular e estrutura química variável. Pesquisadores provaram que os taninos desempenham funções de proteção nas plantas contra herbívoros e doenças patogênicas, além de possuírem a propriedade de complexar fortemente com carboidratos e proteínas, devido à sua adstringência característica. São amplamente distribuídos no reino vegetal, além de possuírem grande importância farmacológica no meio popular (GLASENAPP, 2007; NICIOLI, 2006; QUEIROZ *et al.*, 2002).

Estes compostos podem ser encontrados em raízes, flores, frutos, folhas, cascas e na madeira. Em geral, as cascas possuem maiores teores de fenóis totais, e são mais utilizadas para a obtenção de matéria prima (GLASENAPP, 2007). No trabalho desenvolvido por Santos *et al.* (2002) com o *S. adstringens* verificaram que a concentração de taninos condensados e de fenóis totais é maior na casca do que nas folhas.

Os taninos são encontrados em muitas plantas usadas pelo homem na forma de ervas medicinais, na alimentação e na fabricação de bebidas (GLASENAPP, 2007; PANIZZA, 1997). Eles fornecem o sabor adstringente a comidas e bebidas, como vinhos, chás e frutas verdes (QUEIROZ *et al.*, 2002; NICIOLI, 2006).

Vários estudos vêm sendo desenvolvidos ao longo do tempo para comprovar a atividade biológica do *S. adstringens*, tais como: a interferência do extrato desta planta sobre a curva de parasitemia por *Trypanosoma cruzi* em camundongos infectados pela forma tripomastigota do *T. cruzi* (HERZOG-SOARES, 2002); atividade antimutagênica em medula óssea de

camundongos contra danos induzidos pela mitomicina C, que é um antibiótico antitumoral (ANDRADE *et al.*, 2006); toxicidade contra *Biomphalaria glabrata*, hospedeiro intermediário do *Schistosoma mansoni* (MENDES *et al.*, 1984); efeitos tóxicos em experimentos animais, como diminuição de peso corpóreo, involução do timo e aumento de glicose e da aspartato aminotransferase, além de efeitos no metabolismo hepático, interferindo de três formas: oxidação fosforilativa, inibindo o transporte de elétrons na mitocôndria e inibindo a síntese de ATP (REBECCA *et al.*, 2002; REBECCA *et al.*, 2003);

Em relação à atividade antimicrobiana, diversos trabalhos foram desenvolvidos com o intuito de comprovar a eficácia de uso desta planta no tratamento de inúmeras infecções na medicina popular. Ishida (2006) e Ishida *et al.* (2006) avaliaram a atividade antifúngica de extratos brutos, frações e subfrações das cascas de *Stryphnodendron adstringens* sobre leveduras isoladas de fluido vaginal, demonstrando sua ação fungistática; Silva *et al.* (2009) verificaram atividade do extrato de *S. adstringens* contra espécies de *Candida*; Soares *et al.* (2008) verificou atividade sobre *Streptococcus mitis* e *Lactobacillus casei* bactérias relacionadas com a cárie dental; Alves *et al.* (2000), demonstrou alta atividade do extrato das cascas contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa*; Orlando (2005) comprovou atividade contra: *Candida albicans*, *C. krusei*, *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. rhizophila*, *Neisseria gonorrhoeae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. flexneri*; Souza *et al.* (2007a) confirmou atividade do extrato da casca contra *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. coli*; Souza *et al.* (2007b) corroborou atividade anti-séptica do sabonete líquido incorporado com o referido extrato contra *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. coli*; Souza (2007) em suas análises fitoquímicas indicou a presença de taninos na casca e extratos de *S. adstringens* e evidenciou atividade fungistática para *C. albicans* e *C. parapsilosis* e fungicida para *C. tropicalis*.

Diversos levantamentos etnobotânicos revelam diferentes indicações terapêuticas para o *S. adstringens*, tais como: tratamento de diarreias, câncer, banho para ferida, machucado, infecções em geral, infecções no útero, antiinflamatório em geral, inflamação no ovário, cicatrização de ferida, ducha no útero, úlcera, cicatrizante, dores de garganta, coceiras, malária, anti-febrífugo, afecções hepáticas, impingem, como anti-séptico, depurativo, adstringente e para higiene pessoal (NUNES *et al.*, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2007; SILVA; SOUZA, 2008; SOUZA E FELFILI, 2006; VILA VERDE *et al.*, 2003).

3.6 MANGABEIRA (*Hancornia speciosa* Gomez)

Hancornia speciosa Gomez popularmente conhecida como mangabeira, mangaba, mangabeira-do-norte e fruta-de-doente, pertence à família *Apocynaceae*, e é também denominada de *Echites glauca* Roem. & Schult. A palavra mangaba é de origem indígena e significa “coisa boa de comer” (ALMEIDA *et al.*, 1998; LORENZI, 2000).

Segundo Di Stasi e Hiruma-Lima (2002) a família *Apocynaceae* (*Dicotyledonae*) pertence à ordem *Gentianales*, subclasse *Asteridae*, inclui 165 gêneros, com aproximadamente 1.900 espécies tropicais e subtropicais. Inclui espécies arbustivas, herbáceas, arbóreas, muitas das quais trepadeiras e suculentas.

No Brasil ocorrem 41 gêneros e aproximadamente quatrocentas espécies. Os gêneros mais importantes dessa família são *Alstonia*, *Aspidosperma*, *Rauwolfia*, *Vinca*, *Tabernaemontana*, *Mandevilla*, *Hancornia*, *Nerium*, *Strophantus*, *Catharanthus*, *Allamanda*, *Thevetia*, *Himatanthus* (*Plumeria*) e *Wrightia* (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).

A família *Apocynaceae*, conforme Di Stasi e Hiruma-Lima (2002), pode ser considerada uma das mais importantes fontes vegetais de constituintes químicos de utilidade na medicina moderna. Várias substâncias têm sido isoladas a partir de espécies desta família, e muitas destas espécies representam protótipos de classes farmacológicas distintas de drogas e fazem parte da história da farmacologia e da terapêutica.

De acordo com Guerra *et al.* (2002), a mangabeira é uma planta originária da América do Sul. Apresenta ampla dispersão geográfica, ocorrendo em diversos ecossistemas como amazônico, mata atlântica, Cerrado e tabuleiros costeiros da região Nordeste. Está distribuída nos estados de Alagoas, Amapá, Amazonas, Bahia, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, São Paulo, Tocantins e no Distrito Federal (ALMEIDA *et al.*, 1998).

Sua floração ocorre de agosto a novembro com pico em outubro, a frutificação pode ocorrer em qualquer época do ano, principalmente de julho a outubro ou de janeiro a abril, sendo sua ocorrência associada às seguintes espécies: pequi, jatobá e barbatimão. O resíduo de sementes é utilizado para a produção de mudas e o resíduo da polpa na alimentação animal (ALMEIDA *et al.*, 1998; GUILHERME *et al.*, 2007).

Esta árvore apresenta altura de 5-7m, tronco tortuoso, áspero, bastante ramificado, revestido com uma capa suberosa, ramos lisos, avermelhados, látex branco abundante. As folhas são opostas, simples, pecioladas, apresentam coloração avermelhada quando novas e ao caírem. As flores são brancas e perfumadas. O fruto apresenta casca amarelada com manchas

ou estrias avermelhadas. Possui grande valor nutritivo, com polpa carnosa e comestível, com muitas sementes. Sua madeira é leve, esponjosa, macia e fácil de trabalhar, pouco resistente e de baixa durabilidade natural (ALMEIDA *et al.*, 1998; LORENZI, 2000).

Várias partes da planta são utilizadas para inúmeras atividades. A madeira é utilizada para caixotaria, lenha e carvão. Os frutos são comestíveis, comercializados em feiras, e industrializados na forma de sorvetes e doces, principalmente no Nordeste. A árvore, pelo porte e forma da copa pode ser utilizada na arborização de ruas estreitas, é considerada ornamental pelas suas flores alvas. O caule exsuda látex, semelhante à borracha e utilizado como matéria-prima para produção de uma borracha de qualidade inferior à da seringueira, também é utilizado para impermeabilizar tecidos e confeccionar bolas para esporte (ALMEIDA *et al.*, 1998; LORENZI, 2000).

Pesquisadores descobriram seis variedades de *H. speciosa* e dentre elas a variedade *speciosa*, que produz mais látex, sendo encontrado no Tocantins, atingindo apenas a margem direita do rio Tocantins (LORENZI, 2000).



Figura 05: Árvore e folhas da *Hancornia speciosa* (LORENZI, 2000).

O recente interesse pela mangabeira, *Hancornia speciosa* Gomez, no Brasil, e mais particularmente nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste, cresceu substancialmente, devido ao grande potencial frutífero e ao comportamento produtivo e reprodutivo que indicam ser

uma das espécies frutíferas do Cerrado com maiores chances de ser trabalhada visando sua domesticação e incorporação ao sistema produtivo. Apesar do atual interesse pela fruta, a mangaba continua sendo explorada de forma extrativista (SILVA *et al.*, 2006). Atualmente existe risco de extinção de espécie, devido ao desmatamento intenso nas áreas de ocorrência natural (GUERRA *et al.*, 2002).

Na medicina popular, o chá da folha é usado para cólica menstrual e contra gripe e o decocto da raiz é usado com o quiabinho (*Manihot tripartita*) para tratar luxações e hipertensão, além disso, as folhas e as raízes são empregadas para o tratamento de hipertensão, infecção geniturinária e reumatismo. A casca é indicada para tuberculose, úlceras, dermatite, diabetes, doenças hepáticas e esplênicas e como antiinflamatório. O látex para abscessos internos, tuberculose, úlceras, herpes, dermatoses e verrugas. Outros usos são descritos contra câimbras e agente emagrecedor (ALMEIDA *et al.*, 1998; FERREIRA *et al.*, 2007; LORENZI, 2000; RODRIGUES, 2007).

A literatura revela a presença de flavonóides, catequinas e taninos na casca, bem como esteróides, triterpenos e taninos nas folhas (MORAES *et al.*, 2008; RODRIGUES *et al.*, 2004; RODRIGUES, 2007;). O extrato das cascas constitui-se de uma mistura extremamente complexa, sendo verificada a presença de polímeros isoprenóides (látex) e grande quantidade de taninos condensados (RODRIGUES *et al.*, 2006).

Os principais metabólitos secundários da casca de *H. speciosa*, as catequinas, exibem forte atividade antioxidante. Estudos recentes mostram evidências na inibição de câncer em modelos animais por parte destes polifenóis (RODRIGUES *et al.*, 2004).

Estudos com o intuito de identificar atividade biológica desta planta foram desenvolvidos nos últimos anos, apesar de terem sido poucos os trabalhos voltados para a atividade antibacteriana, considerando suas indicações de uso popular. Santos *et al.* (2007) não demonstraram atividade antimicrobiana do látex contra *Mycobacterium tuberculosis*, *Candida sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*, *Cryptococcus neoformans* var. *gatti*. Tubaldini *et al.* (2004) demonstraram atividade mutagênica do extrato metanólico da *Hancornia speciosa*, devendo seu uso indiscriminado ser visto com cautela. Moraes *et al.* (2008) verificaram diminuição da gravidade de lesões gástricas induzidas contra úlcera gástrica aguda e crônica. Ferreira *et al.* (2007) demonstrou efeito vasodilatador do extrato desta planta, corroborando com seu uso tradicional para tratar hipertensão. Santos *et al.* (2006) testaram a ação antimicrobiana, onde não encontraram atividade dos óleos essenciais das folhas frente aos microrganismos testados (*Bacillus subtilis*, *Bacillus bulgaricus*, *Enterococcus faecalis*,

Staphylococcus aureus, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens* e *Candida albicans*).

Em levantamentos etnobotânicos, como o realizado por Coelho *et al.* (2005), no município de Mumbuca-TO, a mangabeira constitui uma das espécies de interesse medicinal relatada pela população como antidiarréico. Já no trabalho realizado por Macedo e Ferreira (2004), a casca do caule macerada desta planta é apontada como hipoglicemiante, para dores na coluna e nos rins. Vila Verde *et al.* (2003), verificaram que a solução aquosa e o látex da mangabeira são usados contra afecções pulmonares e câimbras. Souza e Felfili (2006) em um estudo conduzido no município de Alto Paraíso de Goiás-GO, a mangabeira é indicada para cólica menstrual, luxações e hipertensão. No trabalho de Oliveira *et al.* (2007) é indicada como digestiva, para tratamentos hepáticos e como laxante.

3.7 INFECCÃO DO TRATO URINÁRIO

Muito comum na prática clínica e nos hospitais, as ITUs respondem por grande parte dos processos infecciosos, comunitários e hospitalares. Estão entre as doenças infecciosas mais comumente diagnosticadas, perdendo apenas para as infecções respiratórias, e podem resultar em uma significativa mortalidade. São responsáveis por uma grande proporção do consumo de agentes antimicrobianos, e possuem amplo impacto sócio econômico, sendo a principal causa das infecções nosocomiais (BLACK, 2002; REMONATTO, 2006; STAMM, 2003).

Este tipo de infecção consiste no comprometimento dos rins, ureteres, bexiga e/ou uretra pela presença de microrganismos e podem compor inúmeras entidades clínicas, como cistite, pielonefrite, bacteriúria assintomática e síndrome uretral, cuja implicação comum é a colonização, invasão e multiplicação microbiana em qualquer um dos tecidos do aparelho urinário. Uma vez estabelecida a infecção em qualquer parte do trato urinário, todo o sistema poderá ser afetado (CAVAGNARO, 2005; SANTOS FILHO, 2006; SOARES *et al.*, 2006; VIEIRA NETO, 2003).

O trato urinário acima da uretra é estéril nos humanos saudáveis. Em geral, a uretra e a vagina são as únicas áreas anatômicas do sistema geniturinário permanentemente colonizadas por microrganismos. Os microrganismos acessam o trato urinário por via ascendente, hematogênica ou linfática, sendo a contaminação por via ascendente a mais freqüente. Neste caso, a urina adquire os microrganismos encontrados na região inferior da uretra quando passa

da bexiga para o exterior. Normalmente estes microrganismos comensais são diferenciados de patógenos potenciais por culturas quantitativas de urina, denominadas uroculturas (BLACK, 2002; HENRY, 2008; KOCH; ZUCCOLOTTO, 2003; MURRAY *et al.*, 2006; PELCZAR, 1996).

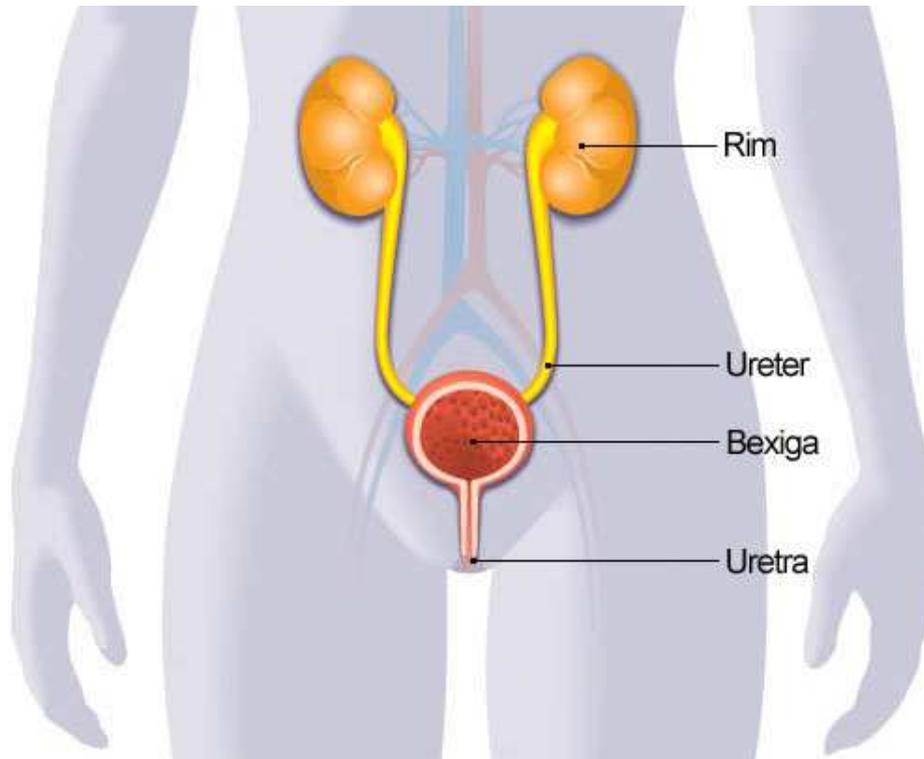


Figura 06: Esquema do trato urinário.

Do ponto de vista epidemiológico todos os indivíduos são suscetíveis, não obstante a prevalência destas infecções difere com a idade, sexo e fatores predisponentes (anormalidade funcional ou anatômica do sistema urinário, defesas orgânicas deficientes e função renal comprometida). Este tipo de infecção é uma das mais frequentes na população adulta, cerca de 3 a 4 % das consultas médicas anuais em mulheres são devidas a queixas de disúria (micção dolorosa) e polaciúria (urgência e frequência miccional), e em pediatria é a segunda infecção mais frequente (ANVISA, 2000; SANTOS FILHO, 2006; STRASINGER, 2000).

A patogênese das ITUs envolve um série de interações entre o hospedeiro e o microrganismo. Os microrganismos invasores são quase sempre parte da microbiota endógena do hospedeiro e sua frequência varia na dependência de onde foi adquirida a infecção, intra ou extra-hospitalar e também difere em cada ambiente hospitalar considerado (BLACK, 2002; HEILBERG; SCHOR, 2003; REMONATTO, 2006).

Os agentes etiológicos dominantes, responsáveis por mais de 85% dos casos de infecção das vias urinárias, são os bacilos Gram-negativos que pertencem à família das Enterobactérias, que são habitantes normais do trato intestinal. Sem dúvida alguma, o mais comum é a *Escherichia coli*, seguida dos gêneros *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Citrobacter*. Entre as bactérias Gram-positivas encontram-se espécies do gênero *Staphylococcus* (SOARES *et al.*, 2006). Nas ITUs complicadas, a incidência de *Pseudomonas* é maior e de Gram-positivas resistentes também (HEILBERG; SCHOR, 2003; KONEMAN *et al.*, 2008; MURRAY *et al.*, 2006).

A *Escherichia coli* está entre as espécies uropatógenas mais freqüentes, sendo relatada em inúmeras pesquisas como o agente etiológico de 70-90% dos casos de infecção urinária comunitária e de origem hospitalar (ALMEIDA *et al.*, 2007; CAVAGNARO, 2005; KOCH; ZUCCOLOTTO, 2003; LUCCHETTI *et al.*, 2005; STAMM, 2003; TORTORA *et al.*, 2005). Este microrganismo possui diversos fatores de virulência, que possibilitam a colonização e posterior infecção do trato urinário (REMONATTO, 2006).

As espécies Gram-positivas mais comumente associadas às ITUs são: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, com destaque para o *S. saprophyticus*. Sua patogenicidade parece estar relacionada com sua capacidade de aderir às células do epitélio do trato urinário (MURRAY *et al.*, 2006).

Pseudomonas aeruginosa é um bacilo Gram-negativo não-fermentador importante uropatógeno que provoca ITU complicada. Esta bactéria pode ser potencialmente fatal, e, especificamente, levar à sepse pacientes idosos e imunocomprometidos. Além disso, é considerada uma das mais prevalentes nas infecções hospitalares em todo o mundo e uma das que formam biofilme mais freqüentemente (ARRUDA, 1998; KONEMAN *et al.*, 2008; SHIGEMURA *et al.*, 2006).

O diagnóstico de ITU necessita da conjugação dos dados clínicos com os laboratoriais, sendo este último essencial para a confirmação da patologia. Um dos fatores indicativos de infecção é o crescimento de microrganismos na urocultura (MURRAY *et al.*, 2006).

Estudos já comprovaram a importância social e econômica da infecção urinária, um problema que pode ser facilmente evitado, mas que pode, por outro lado, trazer danos consideráveis, como graves problemas renais e até a morte. Além disso, há o aumento na resistência dos uropatógenos, tanto na comunidade quanto no ambiente hospitalar, aumentando a taxa de mortalidade em pacientes com bacteremia originada nas vias urinárias, revelando a urgência da busca por novas medidas defensivas, como a exploração de novos

agentes antimicrobianos (BAIL *et al.*, 2006; PRETTO, 2005; SANTOS, 2007; SOARES *et al.*, 2006).

3.8 RESISTÊNCIA BACTERIANA

Nos últimos anos a resistência microbiana às múltiplas drogas vem aumentando progressivamente e se tornando um problema de saúde pública. Este aumento é bem maior em bactérias e tornou-se uma ameaça aos tratamentos de doenças infecciosas, ocasionando dificuldades no controle de infecções, aumento na taxa de morbidade, mortalidade e dos custos de serviços de saúde e dos hospitais (ORLANDO, 2005).

A euforia da descoberta dos primeiros antibióticos e a crença de que no futuro não existiriam mais doenças infecciosas foram esmorecendo, uma vez que a complexidade das reações químicas das bactérias foi menosprezada, assim como o desenvolvimento de mecanismos para sua sobrevivência (UJVARI, 2003).

Os mecanismos de resistência bacteriana são complexos, variados e não completamente conhecidos. Múltiplos determinantes contribuem para a ocorrência, frequência e persistência da resistência bacteriana, tais como: a pressão seletiva pelo uso abusivo de antibióticos; utilização de antibióticos para o tratamento e prevenção de infecções em animais e plantas; a não consideração da resistência como um problema social; a livre e indiscriminada comercialização de antibióticos; a conscientização do paciente, por parte dos clínicos, de que se devem cumprir os tratamentos em doses e tempo (ALÓS, 1994; KONEMAN *et al.*, 2008; ORLANDO, 2005).

Paralelamente ao aumento da resistência aos antimicrobianos, houve uma diminuição no desenvolvimento de novas drogas, tornando-se cada vez mais urgente a conscientização a respeito da resistência microbiana pelos serviços de saúde e a prevenção do aparecimento de novas, através de programas e estratégias básicas que busquem o controle abusivo e indiscriminado de antibióticos, além de incentivos para a descoberta de novos antimicrobianos (ORLANDO, 2005).

Apesar da maioria dos antibióticos existentes atualmente no mercado ser de origem sintética, a pesquisa de produtos naturais voltou a ser objeto de estudo científico. Entre as principais ferramentas na busca de novos modelos moleculares estão a informação de como as

plantas são utilizadas por diferentes grupos étnicos e o estudo farmacológico das preparações utilizadas (MAIA, 2008).

Tendo em vista que bactérias resistentes a diversos antimicrobianos representam um desafio no tratamento de infecções, é notória a necessidade de se encontrar novas substâncias para serem utilizadas no combate a estes microrganismos, onde o potencial terapêutico das plantas entra como uma das alternativas para tais problemas (ORLANDO, 2005).

3.9 ENSAIOS DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A determinação da atividade antibacteriana (AA) de uma substância pode ser verificada por meio de várias técnicas, como a difusão em ágar, que pode ser realizada de três formas: disco, poço ou template; e o método da diluição em ágar ou em caldo, que pode ser desempenhada de duas maneiras: macrodiluição e microdiluição (ALVES *et al.*, 2008; NCCLS, 2003 a,b; SANTOS FILHO, 2006).

São descritos na literatura inúmeros trabalhos que utilizam os ensaios de atividade antimicrobiana para testar a ação de extratos de plantas contra microrganismos (ALVES *et al.*, 2008; ORLANDO, 2005; PRETTO, 2005; REIS, 2006; SANTOS, 2007; SOARES *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2007a,b; SOUZA, 2007).

Os dois métodos mais comumente utilizados para a triagem de extratos de plantas com potencial antibacteriano são: difusão em ágar e diluição em caldo (ALVES *et al.*, 2008).

Alves *et al.* (2008) realizaram um estudo comparativo entre as metodologias comumente usadas em trabalhos que envolvem extratos de espécies vegetais, como a difusão em ágar pela técnica do poço, do disco e do template, e o método da microdiluição em caldo. O ensaio de difusão em ágar pela técnica do poço demonstrou melhor desempenho e o método de diluição em caldo pode ser considerada a melhor opção para determinação da atividade antimicrobiana.

No método de difusão em ágar pela técnica do poço uma quantidade padrão do microrganismo é espalhada uniformemente sobre uma placa com ágar. Em seguida, são feitos orifícios no ágar, e estes são completamente preenchidos com os extratos a serem testados. Em seguida as placas são incubadas a 35°C \pm 2°C por 24h. Após a incubação, os halos de inibição que aparecem no ágar em volta dos poços são medidos com auxílio de uma régua milimetrada (ALVES *et al.*, 2008; ORLANDO, 2005; SOUZA, 2007).

Para garantir a confiabilidade dos resultados, é indispensável trabalhar com uma metodologia padronizada. O método padronizado é atualmente preconizado pelo CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), antigo NCCLS (National Committee For Clinical Laboratory Standards) (ALVES *et al.*, 2008).

Os métodos de diluição em caldo ou ágar são igualmente aceitáveis para medir quantitativamente a atividade *in vitro* de um agente antimicrobiano contra um determinado isolado bacteriano, enquanto que a metodologia da difusão em ágar é considerada uma técnica qualitativa (NCCLS, 2003a,b).

O método de diluição é empregado para definir a concentração mínima de um agente necessária para inibir ou matar um microrganismo. Os agentes antimicrobianos são geralmente testados em diluições consecutivas, e a menor concentração capaz de inibir o crescimento de um organismo é considerada como a Concentração Inibitória Mínima (CIM) (NCCLS, 2003a). Além de ser considerado o padrão para determinar o parâmetro de sensibilidade a antimicrobianos, a CIM também é utilizada para avaliar o desempenho de todos os outros testes de sensibilidade (ANDREWS, 2001).

A técnica de microdiluição em caldo é uma adaptação, e tem essa denominação porque envolve o uso de pequenos volumes de caldo colocados em placas de 80, 96 ou mais poços de fundo redondo ou cônico estéreis, próprias para microdiluição. Nos poços são acrescentadas diversas concentrações dos agentes antimicrobianos a serem testados e são inoculados com uma suspensão padrão dos microrganismos em análise. As placas de microdiluição são incubadas a 35°C \pm 2°C por 24h. O resultado pode ser visualizado através de aparelhos baseados em leitura óptica, a “olho nu” ou com o auxílio de substâncias que revelem a presença de células viáveis na amostra, como é o caso da resazurina (ALVES *et al.*, 2008).

Esta substância é utilizada como indicador de contaminação bacteriana ou para testar atividade antimicrobiana através da mudança de coloração, pois é um indicador de oxido-redução. A resazurina (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona-10-óxido) de cor azul é oxidada na presença de células viáveis a resofurina, substância de coloração vermelha (ALVES *et al.*, 2008; PALOMINO *et al.*, 2002).

4 METODOLOGIA

4.1 EXTRATO VEGETAL

4.1.1 Seleção das espécies de plantas em estudo

A escolha das espécies vegetais estudadas, *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e *Hancornia speciosa* Gomez, tem como base levantamentos etnobotânicos, onde estas plantas são indicadas para o tratamento de diversas enfermidades, inclusive infecções relacionadas ao trato urinário, e trabalhos acadêmicos relacionados às espécies em estudo (ALMEIDA *et al.*, 1998; COELHO *et al.*, 2005; FERREIRA *et al.*, 2007; LORENZI, 2000; MACEDO; FERREIRA, 2004; NICIOLI, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2007; ORLANDO, 2005; PANIZZA, 1997; RODRIGUES, 2007; SANTOS, MELLO, 2007; SOARES *et al.*, 2008; SOUZA; FELFILI, 2006; VILA VERDE *et al.*, 2003).

As espécies foram coletadas no mês de novembro de 2008, na Universidade Federal do Tocantins/Campus de Porto Nacional, e identificadas pelo Prof. Msc. Rodney Haulien Oliveira Viana, botânico e professor assistente do curso de Biologia da Universidade Federal do Tocantins/ Campus de Porto Nacional.

Herbarizou-se uma amostra de cada planta no Herbário do Tocantins localizado na Universidade Federal do Tocantins/Campus de Porto Nacional, com números de registro 10.041 para *S. adstringens* e 10.042 para *H. speciosa*.

4.1.2 Extrato etanólico das espécies vegetais

A preparação do extrato etanólico das plantas foi realizada no Laboratório de Fitoquímica da Universidade Federal do Tocantins/Campus de Porto Nacional, de novembro de 2008 a abril de 2009.

Para a obtenção dos extratos vegetais, as partes frescas das plantas foram dessecadas em estufa à temperatura de 60°C. Em seguida, as cascas e as folhas do *S. adstringens* e da *H. speciosa* foram trituradas utilizando-se um moinho de facas (MARCONI, Mod. MA-340/A) e maceradas à temperatura ambiente com uma solução de álcool etílico a 96%, durante 72 horas. Após extração prolongada, a solução resultante foi filtrada e concentrada em um evaporador rotativo (MARCONI, Mod. MA120-TH). Secou-se o material utilizando-se um liofilizador (LIOTOP/ Mod. L101) por um período de 24h para a retirada do excesso de solvente restante do processo de evaporação, e obteve-se a forma granulométrica do tipo pó dos extratos (COLARES, 2007).

4.1.3 Preparo das soluções dos extratos para os testes microbiológicos

Para a realização do método de difusão em ágar foram preparadas três soluções diferentes dos extratos utilizados dissolvidos em dimetilsulfóxido (DMSO) (Vetec): 100mg/mL (0,5g de extrato dissolvidos em 5 mL de DMSO); 200mg/mL (1g de extrato dissolvidos em 5 mL de DMSO) e 300mg/mL (1,5g de extrato dissolvidos em 5 mL de DMSO) (ORLANDO, 2005).

Para a solução estoque dos extratos para a determinação da CIM foram pesados 100mg de cada extrato e dissolvidos em 1mL de DMSO. Os extratos foram diluídos em caldo Brain-Heart Infusion (BHI) a partir da solução estoque de 100mg/mL de 1:5 obtendo-se soluções teste de 20mg/mL (SOUZA, 2007).

4.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

4.2.1 Material Microbiológico

Foram utilizados microrganismos isolados de uroculturas positivas, devidamente identificados pelas biomédicas Jacqueline Milhomem de Moraes e Roumayne Lopes Ferreira,

dos Laboratórios Ética e Osvaldo Cruz do município de Palmas/TO, respectivamente, no período de abril a junho de 2009.

As bactérias utilizadas para a realização da pesquisa estão relacionadas no quadro 01.

Quadro 01: Espécies bacterianas utilizadas no trabalho.

Microrganismos	Nº
Gram-negativas	
Enterobactérias	
<i>Citrobacter sp.</i>	2
<i>Enterobacter agglomerans</i>	3
<i>Enterobacter sp.</i>	3
<i>Escherichia coli</i>	18
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1
<i>Klebsiella ozaenae</i>	1
<i>Proteus mirabilis</i>	1
Outras	
BGN-NF	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4
Gram-positivas	
<i>Staphylococcus aureus</i>	3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1
<i>Staphylococcus sp.</i>	8
TOTAL	50

As amostras foram mantidas em ágar Nutriente (Biobrás) e conservadas sob refrigeração (4°C) no Laboratório de Microbiologia Médica e Ambiental do Instituto de Biologia e Saúde Pública da Universidade Federal do Tocantins/Campus de Porto Nacional e

Laboratório Multiusuário I da Universidade Federal do Tocantins/Campus de Palmas, sendo repicadas 24h antes de cada teste para a utilização de colônias jovens.

4.2.2 Métodos microbiológicos

A pesquisa foi desenvolvida em dois laboratórios. De abril à maio de 2009 no Laboratório de Microbiologia Médica e Ambiental do Instituto de Biologia e Saúde Pública da Universidade Federal do Tocantins/Campus de Porto Nacional e de junho à novembro no Laboratório Multiusuário I do curso de Medicina da Universidade Federal do Tocantins/Campus de Palmas.

A avaliação da AA dos extratos foi realizada pelo método de difusão em ágar pela técnica de poços e pela avaliação da CIM.

4.2.3 Preparo dos inóculos bacterianos

Para o preparo dos inóculos bacterianos, as bactérias (n=50, Quadro-01) foram ativadas em tubo contendo 2,5mL de ágar Nutriente, incubados a 35°C \pm 2°C por 24h. Para o isolamento de colônias jovens, selecionou-se 03 (três) a 04 (quatro) colônias, transferindo-as para um tubo estéril contendo 9 mL de solução salina a 0,9% (Arboreto). A turvação salina foi ajustada com a escala 0,5 de MacFarland (ORLANDO, 2005).

4.2.4 Preparo do meio de cultura

Preparou-se o ágar Mueller Hinton (AMH) (Acumedia) e o ágar BHI (Biobrás) conforme especificações do fabricante. Os meios de cultura foram esterilizados em autoclave vertical (PRISMATEC/Mod. CS) por 15min à 121°C. Nas placas de Petri foram dispensados 50 mL de AMH e nas microplacas 100 μ l de BHI em cada poço.

4.2.5 Controles

Foram utilizados como controle positivo (CP) antimicrobianos comerciais de referência, respeitando o perfil de sensibilidade de cada grupo. O antibiótico Ampicilina (Sandoz) foi utilizado como substância controle para as bactérias Gram-positivas e o Ciprofloxacino (Prati-Donaduzzi) para as Gram-negativas por fazerem parte dos antibióticos de escolha para ao tratamento de ITU (STAMM, 2003). E como controle negativo (CN) foi utilizado DMSO puro (ORLANDO, 2005; SOUZA, 2007).

4.2.6 Preparo do controle positivo (CP)

Preparou-se uma solução na concentração de 1mg/mL de cada antibiótico utilizado (ANDREWS, 2001).

4.2.7 Método da difusão em ágar pela técnica do poço

O teste de difusão em ágar foi fundamentado na Norma M2-A8 do NCCLS, com modificações (NCCLS, 2003b; ORLANDO, 2005).

Foram acrescentados 100µl do inóculo bacteriano com o ajuda de uma pipeta automática nas placas de Petri previamente preparadas com AMH. Distribuiu-se o inóculo em toda a superfície do meio com auxílio de uma alça de Drigalski, utilizando a técnica de espalhamento em superfície “spread-plate”. Após alguns minutos, com um canudo plástico descartável foram feitos cinco poços medindo aproximadamente 6 mm cada. A partir da confecção dos poços, dispensou-se 40,0µl dos extratos nas concentrações de 100, 200 e 300mg/mL, junto com os CP e CN nos poços devidamente identificados, com pipeta automática. Incubou-se em estufa (BIOPAR/Mod.S80SA) a 35°C ±2°C por 24h. Após a incubação, o halo de inibição foi medido em milímetros, utilizando-se uma régua milimetrada, e o valor estimado foi a média dos halos em triplicata, de acordo com o desenho da figura 07. Todos os procedimentos foram realizados com materiais previamente autoclavados e em capela de fluxo laminar (MARCONI /Mod. MA1550).

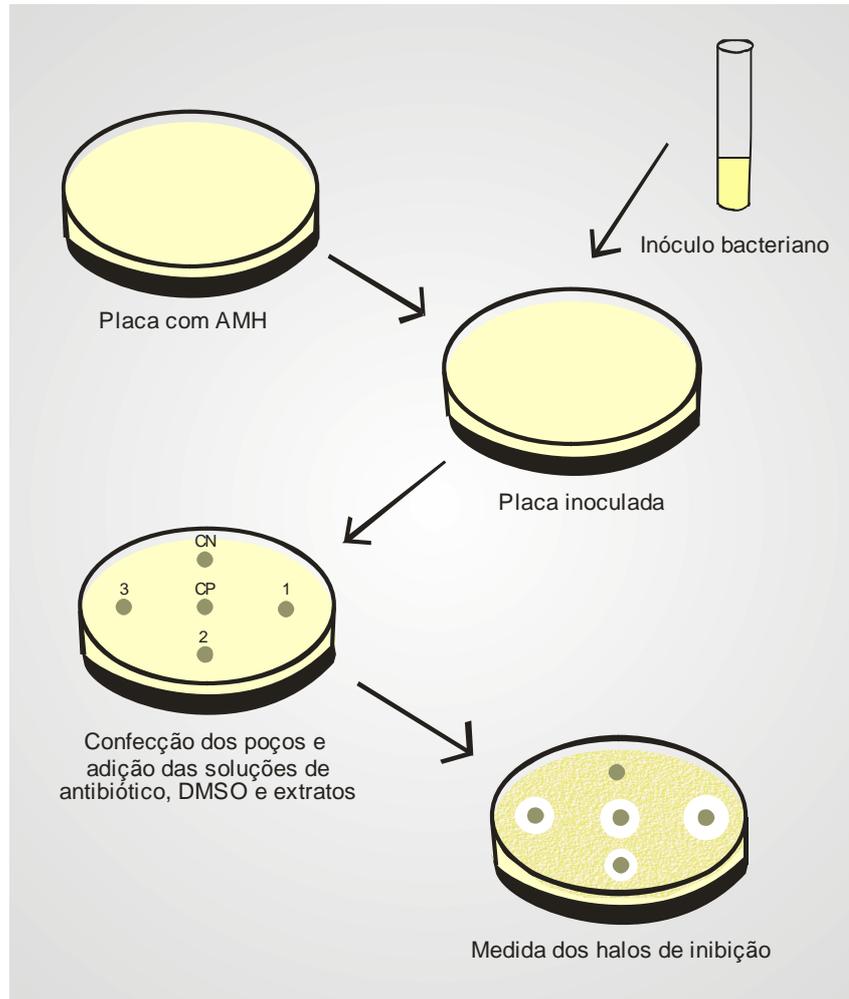


Figura 07: Desenho da difusão em ágar pela técnica de poços: placa com ágar Mueller Hinton recebe o inóculo bacteriano; confecção dos poços e posterior adição das soluções do controle negativo (DMSO), controle positivo (antibiótico) e 100, 200 e 300 mg/mL dos extratos. CN – controle negativo; CP – controle positivo; 1 – 100 mg/mL; 2 - 200 mg/mL; 3 - 300 mg/mL.

4.2.8 Determinação da Concentração Inibitória Mínima

A determinação da CIM foi realizada tendo como fundamento a Norma M7-A6 do NCCLS com modificações (NCCLS, 2003a; SOUZA, 2007).

Nesta metodologia foi utilizada diluição em microplaca, onde em todos os poços foram colocados 100µl de caldo BHI. Foram pipetados 100µl de cada uma das soluções estoque (20mg/mL) dos extratos nos respectivos poços da primeira linha (colunas 1 a 4 e de 9 a 12). Foram realizadas diluições seriadas transferindo-se 100µl do poço anterior para o subsequente (linhas A a H) desprezando-se 100µl no final, obtendo-se as seguintes concentrações: 5,0, 2,5, 1,25, 0,625, 0,312, 0,156, 0,078 e 0,039 mg/mL. Em cada um destes poços foram adicionados 100µl da solução bacteriana. Como controle negativo do crescimento bacteriano foi adicionado a um poço (coluna 5) 100µl do antibiótico e de solução bacteriana. Para controle do solvente foi adicionado 100µl de DMSO:BHI (1:1) em um poço (coluna 6). O controle do crescimento bacteriano foi verificado pela adição de 100µl de solução bacteriana (coluna 7). E como controle microbiológico dos extratos foram adicionados 50µl de cada extrato na coluna 8, conforme figura 8. As microplacas foram incubadas por 24h a 35°C ±2°C. A inibição do crescimento bacteriano foi evidenciada pela adição de 50µl de uma solução aquosa de resazurina (Sigma) a 0,01% após 1h de incubação a 35°±2. Foi considerado como concentração inibitória mínima a menor concentração que inibiu o crescimento bacteriano. Os testes foram realizados em triplicata e todos os procedimentos foram desempenhados com materiais previamente autoclavados e em capela de fluxo laminar.

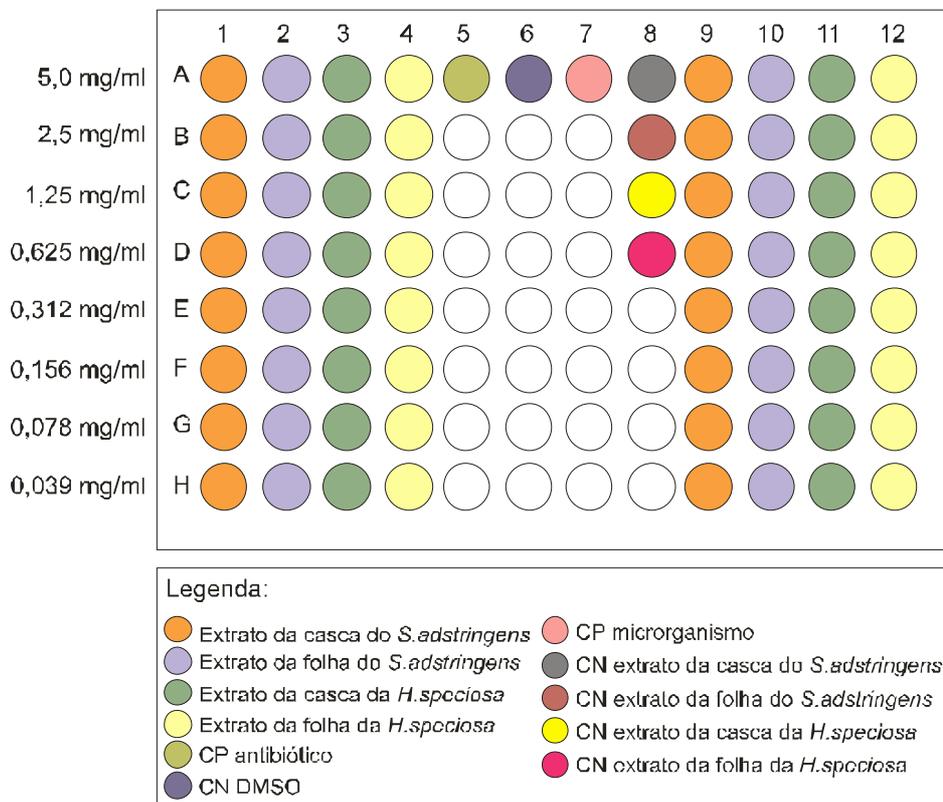


Figura 08: Esquema da microplaca para a determinação da CIM.

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados dos ensaios microbiológicos pelo método da difusão em ágar foram submetidos à análise estatística por testes não-paramétricos, seguindo o modelo Kruskal-Wallis pelo método de Dunn. A determinação da CIM foi avaliada através da moda dos resultados encontrados (ARANGO, 2005).

6 RESULTADOS

6.1 DIFUSÃO EM ÁGAR - TÉCNICA DE POÇOS

Na metodologia da difusão em ágar pela técnica de poços, o solvente DMSO empregado para solubilizar os extratos liofilizados foi utilizado como controle negativo. Pela figura 9 pode-se observar que neste poço não houve halo de inibição do crescimento bacteriano, demonstrando que não houve intervenção do solvente na atividade antibacteriana. Nesta mesma figura é possível visualizar os halos de inibição para as diferentes concentrações testadas e para o controle positivo. Como controle positivo foram utilizados os antibióticos Ampicilina para microrganismos Gram-positivos e Ciprofloxacino para Gram-negativos.

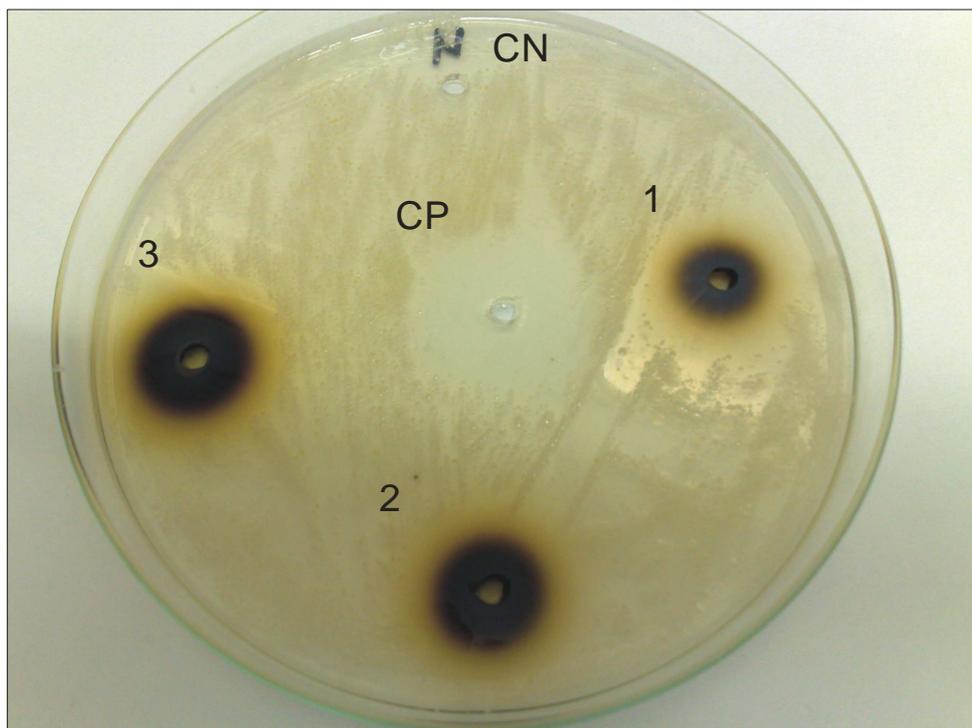


Figura 9: Fotografia do teste de difusão em ágar pela técnica de poços - extrato da casca do *S. adstringens* contra *S. aureus*. CN – controle negativo; CP - controle positivo; 1 – 100mg/mL; 2 – 200mg/mL; 3 – 300 mg/mL.

6.1.1 Casca do *S. adstringens*

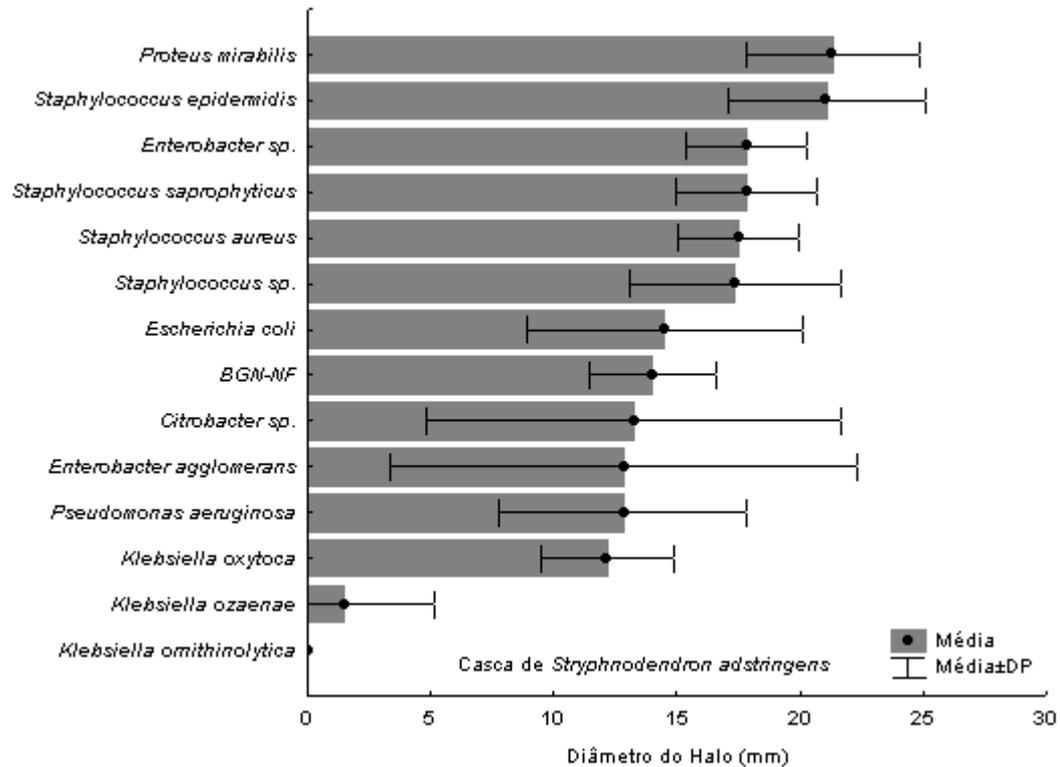


Figura 10: Diâmetro dos halos de inibição (mm) do extrato da casca do *S. adstringens* para as bactérias testadas.

Conforme podemos observar na figura 10, as bactérias Gram-positivas apresentaram maior sensibilidade. Com relação às bactérias Gram-negativas, *K. ornithinolytica* não demonstrou sensibilidade ao extrato, e *P. mirabilis* apresentou a maior sensibilidade.

Em ordem decrescente de sensibilidade estão: *P. mirabilis*, *S. epidermidis*, *E. sp.*, *S. saprophyticus*, *S. aureus*, *S. sp.*, *E. coli*, BGN-NF, *C. sp.*, *E. agglomerans*, *P. aeruginosa*, *K. oxytoca*, *K. ozaenae* e *K. ornithinolytica*.

6.1.2 Folha do *S. adstringens*

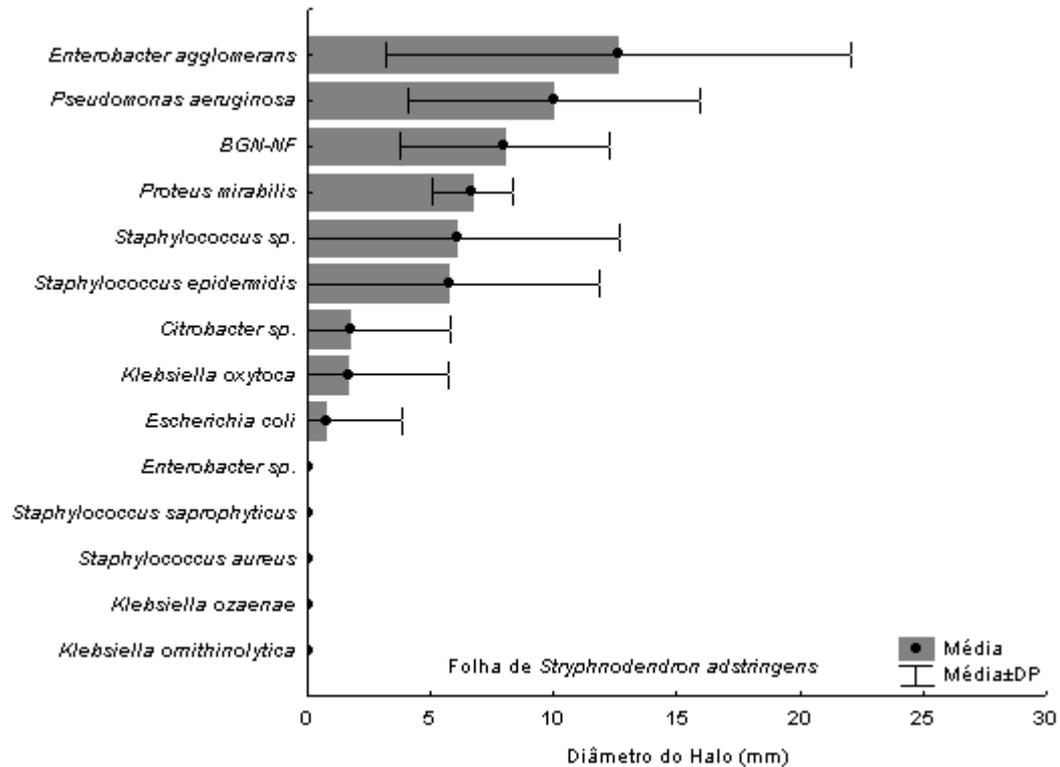


Figura 11: Diâmetro dos halos de inibição (mm) do extrato das folhas do *S. adstringens* para as bactérias testadas.

De acordo com a figura acima, alguns microrganismos avaliados apresentaram resistência nas concentrações testadas para o extrato da folha do *S. adstringens*, como: *E. sp.*, *S. saprophyticus*, *S. aureus*, *K. ozaenae* e *K. ornithinolytica*. As bactérias sensíveis foram: *E. agglomerans*, *P. aeruginosa*, BGN-NF, *P. mirabilis*, *S. sp.*, *S. epidermidis*, *C. sp.*, *K. oxytoca* e *E. coli*.

6.1.3 Casca da *H. speciosa*

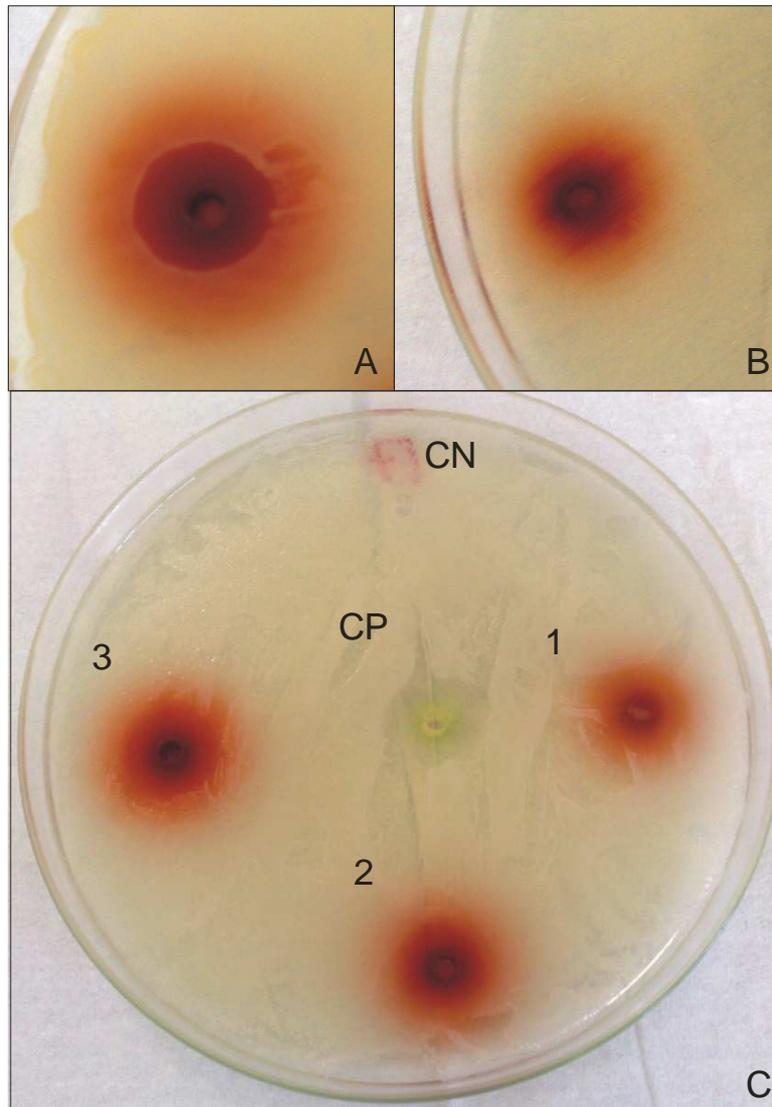


Figura 12: Fotografias do teste de difusão em ágar com o extrato da casca da *H. speciosa*. A) Halo de inibição contra *S. sp.* B) Crescimento da *E. sp* ao redor do poço. C) Halo de inibição contra *S. epidermidis*. CP – controle positivo; CN – controle negativo; 1 – 100mg/mL; 2 – 200mg/mL; 3 – 300mg/mL.

Na figura 12A é possível visualizar o halo de inibição do crescimento bacteriano formado ao redor do poço onde foi aplicado o extrato. Na figura 12B, o extrato da casca da *H. speciosa* não inibiu o crescimento microbiano. E na figura 12C observa-se crescimento

bacteriano ao redor do CN, e sensibilidade do microrganismo testado nos poços onde foram aplicados o CP e as diferentes concentrações do extrato.

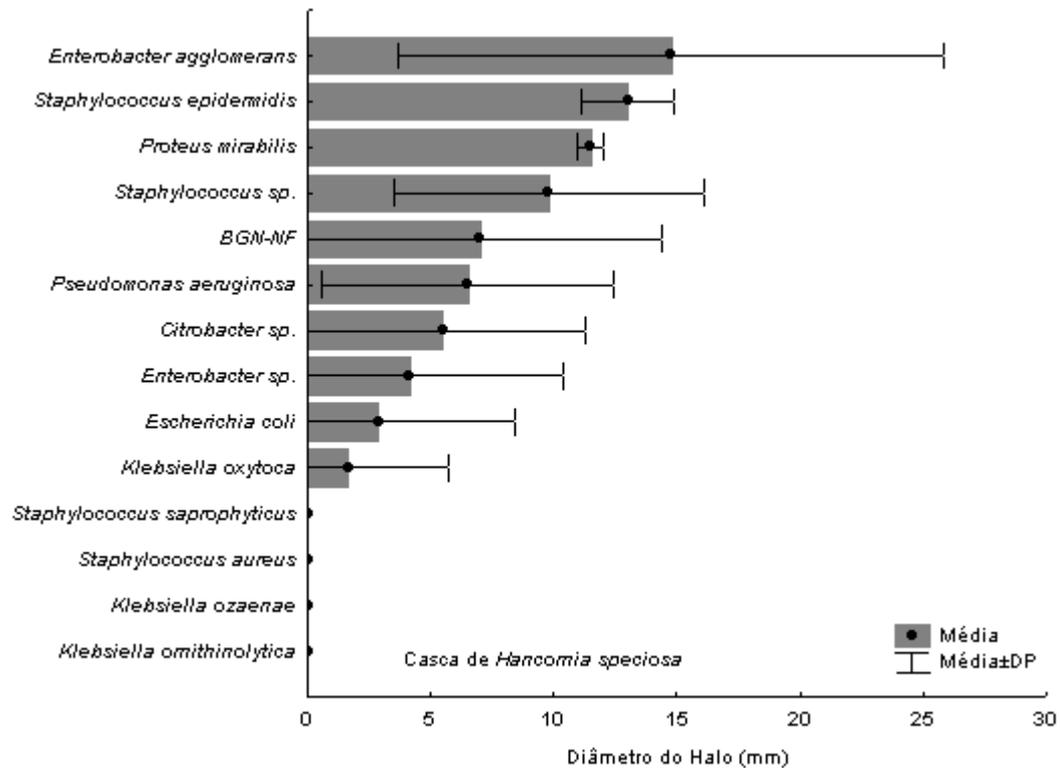


Figura 13: Diâmetro dos halos de inibição (mm) do extrato da casca da *H. speciosa* para as bactérias testadas.

De acordo com a figura 13, a atividade antibacteriana do extrato da casca da *H. speciosa* foi observada em 10 (dez) espécies: *E. agglomerans*, *S. epidermidis*, *P. mirabilis*, *S. sp.*, BGN-NF, *P. aeruginosa*, *C. sp.*, *E. sp.*, *E. coli* e *K. oxytoca*. As bactérias resistentes ao extrato foram: *S. saprophyticus*, *S. aureus*, *K. ozaenae* e *K. ornithinolytica*.

6.1.4 Folha da *H. speciosa*

Pela análise da figura 14 é possível inferir que todas as espécies Gram-positivas testadas e das 14 (quatorze) espécies analisadas, apenas 02 (duas) não foram sensíveis à ação do extrato da folha da *H. speciosa*: *K. ozaenae* e *K. ornithinolytica*.

Entre os microrganismos sensíveis, em ordem decrescente estão: *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. aureus*, *S. sp.*, *P. mirabilis*, *E. agglomerans*, BGN-NF, *E. sp*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *C. sp.* e *K. oxytoca*.

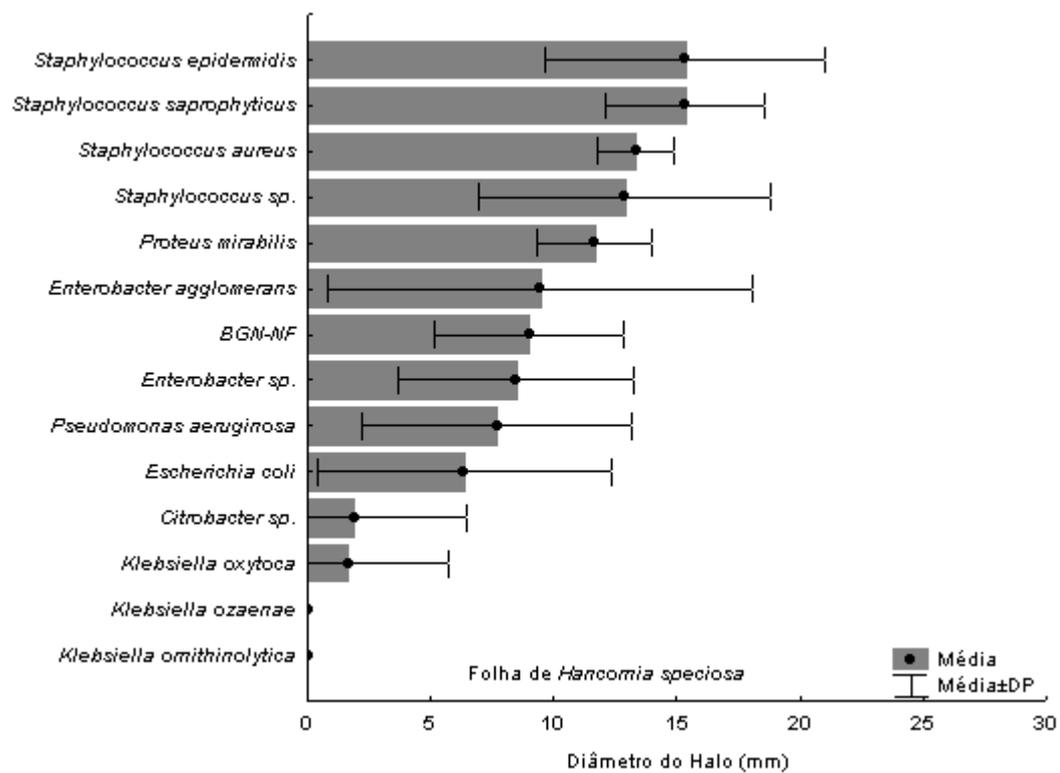


Figura 14: Diâmetro dos halos de inibição (mm) do extrato das folhas da *H. speciosa* para as bactérias testadas.

6.1.5 Todos os extratos

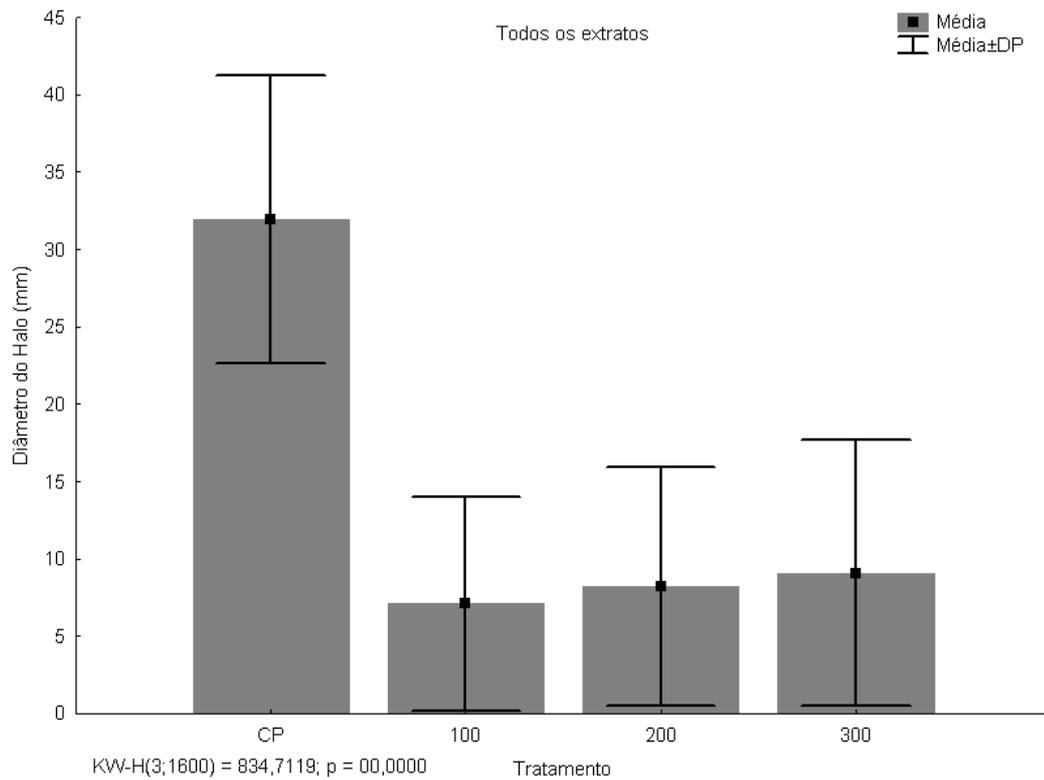


Figura 15: Comparação da atividade antibacteriana entre os extratos das folhas e cascas do *S. adstringens* e *H. speciosa* nas concentrações de 100, 200 e 300 mg/mL com o controle positivo.

Ao analisarmos as diferenças entre os diâmetros dos halos de inibição do crescimento bacteriano entre o controle positivo e as diversas concentrações dos extratos, constatou-se que as diversidades significativas relacionam-se entre o controle positivo e os extratos, não havendo variedades expressivas entre as concentrações de 100, 200 e 300 mg/mL para cada extrato testado, em conformidade com a figura acima.

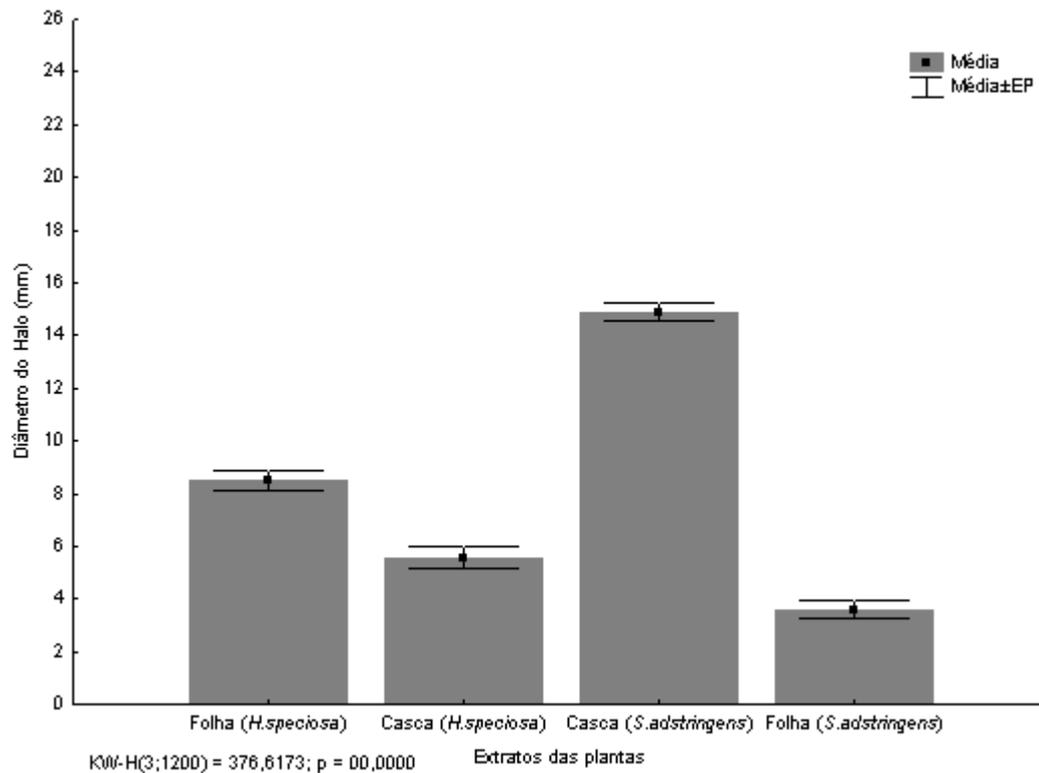


Figura 16: Comparação entre os diâmetros dos halos de inibição bacteriana entre os extratos das folhas e cascas do *S. adstringens* e *H. speciosa*.

Conforme podemos observar na figura 16, dos quatro extratos analisados, a casca do *S. adstringens* e a folha da *H. speciosa* apresentaram os maiores diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiológico, seguidos da casca da *H. speciosa* e da folha do *S. adstringens*.

6.2 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA

Na determinação da CIM pela técnica da microdiluição, os controles utilizados foram válidos, uma vez que se detectou crescimento bacteriano nos poços selecionados para controle positivo microbiológico; ausência de crescimento bacteriano nos poços que não receberam inóculo, indicando a esterilidade dos extratos, do DMSO e do meio de cultura. Os controles positivos foram os mesmos utilizados na difusão em ágar, e a partir da mudança de coloração dos poços com o emprego da resazurina, foi possível verificar a ausência (cor azul) ou a presença (cor vermelha) de células bacterianas.

De acordo com o quadro 02, que expõe os valores mais frequentes dos testes de determinação da CIM, verifica-se que o extrato da casca do *S. adstringens* foi o que

apresentou as menores CIMs, seguido do extrato da folha da *H. speciosa* e da folha do *S. adstringens*. O extrato da casca da *H. speciosa* não demonstrou atividade para esta metodologia nas concentrações testadas.

Quadro 02: Moda dos resultados de CIM dos extratos testados em mg/mL.

Bactérias	Extratos			
	Casca <i>S. adstringens</i>	Folha <i>S. adstringens</i>	Casca <i>H. speciosa</i>	Folha <i>H. speciosa</i>
Gram-negativa				
BGN-NF	5	> 5	> 5	> 5
<i>Citrobacter sp.</i>	> 5	> 5	> 5	> 5
<i>Enterobacter agglomerans</i>	> 5	> 5	> 5	> 5
<i>Enterobacter sp.</i>	> 5	> 5	> 5	> 5
<i>Escherichia coli</i>	> 5	> 5	> 5	> 5
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	1,25	> 5	> 5	5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1,25	5	> 5	2,5
<i>Klebsiella ozaenae</i>	> 5	> 5	> 5	> 5
<i>Proteus mirabilis</i>	> 5	> 5	> 5	> 5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	> 5	> 5	5
Gram-positiva				
<i>Staphylococcus aureus</i>	> 5	> 5	> 5	> 5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5	> 5	> 5	5
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2,5	> 5	> 5	5
<i>Staphylococcus sp.</i>	> 5	> 5	> 5	> 5

Cor azul: bactérias que apresentaram sensibilidade na determinação da CIM.

O extrato da casca do *S. adstringens* demonstrou CIM para BGN-NF, *P. aeruginosa* e *S. epidermidis* de 5,0 mg/mL, para *S. saprophyticus* de 2,5 mg/mL e para *K. ornithinolytica* e *K. oxytoca* de 1,25mg/mL. Para o extrato da folha do *S. adstringens* apenas 01 (uma) bactéria evidenciou CIM nas condições estudadas: *K. oxytoca* com CIM de 5,0 mg/mL. E para o extrato da folha da *H. speciosa* verificou-se atividade para *K. ornithinolytica*, *P. aeruginosa*, *S. saprophyticus* e *S. epidermidis* de 5,0mg/mL e para *K. oxytoca* de 2,5mg/mL.

Em decorrência dos resultados alcançados, fica evidente que as menores concentrações foram encontradas para as bactérias Gram-negativas.

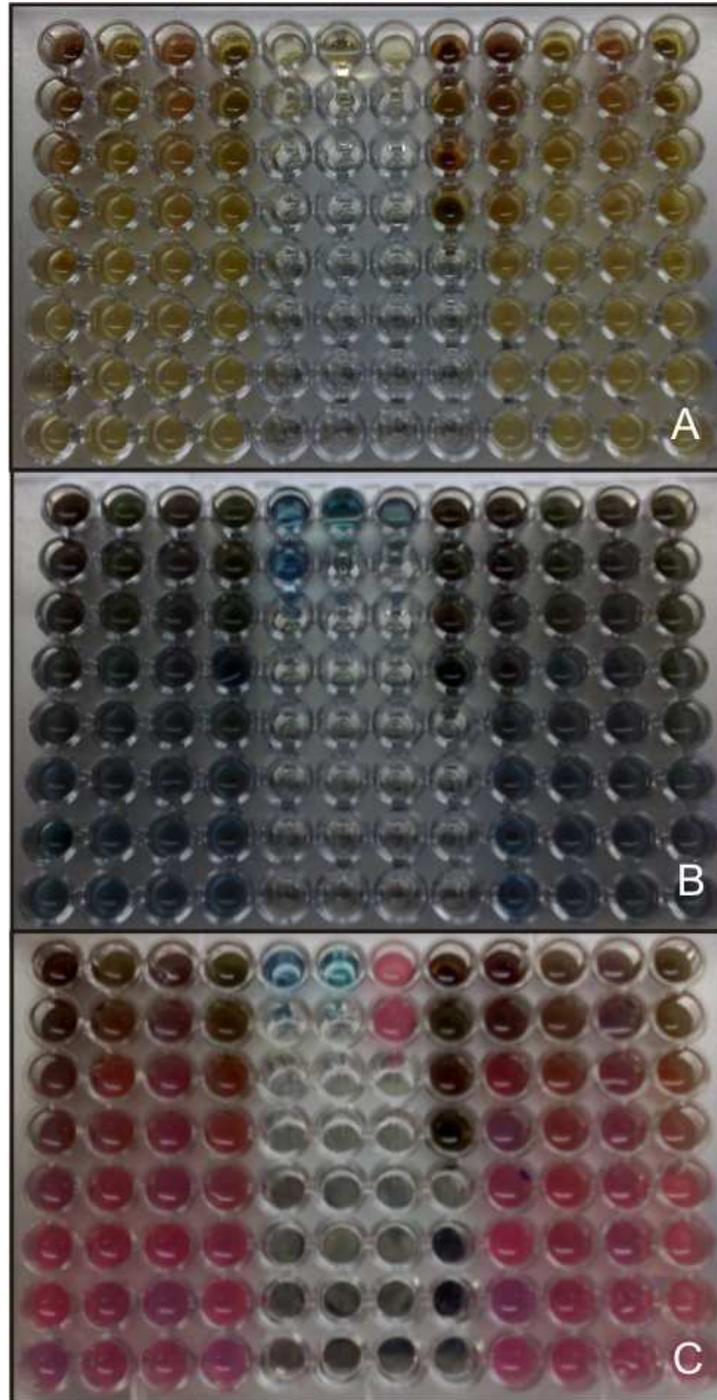


Figura 17: Fotografia das microplacas. A) Microplaca com os extratos, antes da aplicação da resazurina B) Microplaca logo após a aplicação da resazurina C) Microplaca com resazurina após incubação, onde nota-se a presença da coloração rosa para os poços onde houve crescimento bacteriano e azul onde houve inibição do crescimento.

7 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Pelo exame dos resultados da difusão em ágar é possível inferir que houve diferenças expressivas entre o diâmetro dos halos de inibição do crescimento bacteriano dos extratos das folhas e cascas do *S. adstringens* e *H. speciosa* com o controle positivo utilizado para validar as análises, em conformidade com a figura 15. Isto pode estar relacionado com a velocidade de difusão das substâncias testadas e com a própria composição dos extratos, uma vez que num extrato de planta encontram-se diversas substâncias diluídas e, também pelas características do controle positivo, que é um antibiótico sintético, ou seja, uma substância pura, com mecanismos e espectro de ação conhecidos, amplamente estudados e testados.

Em meio aos extratos testados por esta técnica, a casca do *S. adstringens* e a folha da *H. speciosa* apresentaram o maior potencial antibacteriano, tanto pela quantidade de espécies sensíveis quanto pelo tamanho dos halos de sensibilidade, conforme é possível visualizar nas figuras 10, 14 e 16.

Das 14 (quatorze) espécies bacterianas testadas, 13 (treze) demonstraram sensibilidade ao extrato da casca do *S. adstringens*, 12 (doze) à folha da *H. speciosa*, 10 (dez) à casca da *H. speciosa* e 09 (nove) à folha do *S. adstringens*, segundo as figuras 10, 14, 13 e 11, respectivamente, verificando-se também a diferença entre as médias dos halos de sensibilidade para cada microrganismo em cada extrato.

K. ornithinolytica foi o único microrganismo testado que não demonstrou sensibilidade aos extratos na difusão em ágar, e *K. ozaenae* foi sensível apenas ao extrato da casca do *S. adstringens*.

Dos experimentos realizados através da difusão em ágar, foi possível observar que *S. epidermidis* e *P. mirabilis* apresentaram os maiores halos de sensibilidade, quando se utilizou o extrato da casca do *S. adstringens*.

A maior parte da atividade antibacteriana foi observada na metodologia da difusão em ágar, o que pode ter ocorrido devido às concentrações dos extratos utilizados neste teste serem mais altas do que as concentrações utilizadas para determinar a CIM.

Em ambos os testes, as maiores atividades foram desenvolvidas pelos extratos da casca do *S. adstringens* e folha da *H. speciosa*, indicando que estes extratos possuem maior potencial antimicrobiano.

Diversos autores desconsideram valores dos halos de inibição de crescimento microbiano inferiores a 10 mm devido ao fato da grande maioria dos antibióticos de uso

clínico ser ativa contra microrganismos sensíveis a partir de halos superiores a este valor (GONÇALVES *et al.*, 2006).

Partindo desta proposição, nas duas metodologias utilizadas, as bactérias Gram-positivas mostraram-se mais sensíveis aos extratos utilizados. O que vai de encontro a outros trabalhos realizados com atividade antibacteriana de extratos vegetais (CUNICO *et al.*, 2004; MAIA, 2008; SANTOS, 2007).

Segundo Maia (2008) e Pretto (2005), o perfil de seletividade em relação às bactérias Gram-positivas tem sido geralmente encontrado nos testes de atividade antimicrobiana com plantas, entretanto é um fenômeno também observado para a maioria dos agentes antimicrobianos. O que pode estar relacionado à constituição da parede celular bacteriana e do extrato vegetal. Existe uma relação entre o teor de metabólitos secundários e a atividade contra bactérias Gram-positivas, que têm estrutura celular mais rígida, parede celular quimicamente menos complexa e menor teor lipídico do que as bactérias Gram-negativas.

Além disso, a utilização de solventes polares, como o etanol que foi utilizado neste trabalho, pode estar relacionada com uma maior atividade contra as bactérias Gram-positivas, pelo fato deste tipo de microrganismo possuir menor teor lipídico na constituição da sua parede celular.

A resistência intrínseca das bactérias Gram-negativas aos agentes antimicrobianos está relacionada com a parede celular que é mais complexa estruturalmente e quimicamente do que a parede das Gram-positivas. A presença da membrana externa, que é constituída por uma bicamada lipídica pouco permeável a solutos hidrofílicos, tais como a maioria dos nutrientes e antimicrobianos, é uma das estruturas da parede que contribui para essa particularidade. Com isso, o agente antimicrobiano encontra grande dificuldade de penetrar na célula, ou quando consegue a concentração não é alta o suficiente para apresentar o resultado esperado. Além desta estrutura, estas bactérias possuem o espaço periplasmático, onde são encontradas as enzimas degradantes que inativam alguns antibióticos, como por exemplo, os beta-lactâmicos, nucleases, proteases, entre outras (MURRAY *et al.*, 2006; PRETTO, 2005; SOARES, 2005).

Também tem sido demonstrado que as bactérias, sobretudo as Gram-negativas, possuem mecanismos especializados em expulsar substâncias estranhas para fora de sua célula, denominado bomba de efluxo. Este mecanismo atua limitando o acesso do agente antimicrobiano ao seu alvo de ação, através de uma ativa bomba de efluxo, que lança a molécula de antibiótico para fora da célula. Este sistema previne o acúmulo de droga no interior do microrganismo, evitando assim que o agente antimicrobiano atinja a quantidade

necessária para tornar o ambiente letal à célula, não exercendo o seu efeito (PRETTO, 2005; SOARES, 2005).

Em relação à determinação da CIM, que avalia a menor concentração da substância em teste capaz de inibir o crescimento microbiano, ainda não existe na literatura referências conclusivas para classificar as faixas de CIM e sua correspondência de atividade farmacológica para extratos vegetais. Um dos parâmetros mais citados em trabalhos científicos deste tipo é o estabelecido por Holetz *et al.* (2002), onde valores da CIM menor que 0,1mg/mL são considerados com boa atividade antimicrobiana, os que apresentam valores entre 0,1 e 0,5mg/mL são considerados moderadamente ativos, entre 0,5 e 1mg/mL são considerados fracos e quando a CIM for maior que 1mg/mL o produto é considerado inativo (PRETTO, 2005; SOUZA, 2007).

No entanto, optou-se por não desprezar valores entre 5 e 1 mg/mL, pois os extratos de plantas são compostos ativos que se encontram diluídos em outros compostos, não sendo apropriado colocá-los no mesmo patamar dos compostos sintéticos, que são substâncias puras.

Apesar das bactérias Gram-positivas terem respondido com mais sensibilidade aos extratos, as bactérias Gram-negativas apresentaram as menores CIMs. Desta forma, as espécies de *Klebsiella* mostraram-se mais sensíveis na determinação da CIM, o que pode ser observado para os extratos da casca e folha do *S. adstringens* e folha da *H. speciosa* onde as menores CIMs foram para *K. ornithinolytica* e *K. oxytoca*. Na difusão em ágar, *K. oxytoca* representa a espécie com os menores halos de sensibilidade e *K. ornithinolytica* foi o único microrganismo resistente a todos os extratos, evidenciando a diferença entre as duas técnicas.

Na determinação da CIM também é possível observar que ocorreu uma frequência de espécies sensíveis: *K. ornithinolytica*, *K. oxytoca*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* para os extratos da casca do *S. adstringens* e folha da *H. speciosa*; e *K. oxytoca* para o extrato da folha do *S. adstringens*.

Alves *et al.* (2000), Rauha *et al.* (2000) e Orlando (2005) demonstraram em seus trabalhos que não existe relação entre o tamanho do halo de inibição do crescimento microbiano com menor ou maior atividade do extrato testado. O que pode explicar quando no método de difusão são desenvolvidos halos maiores para as Gram-positivas e na CIM as menores concentrações ocorrem nas Gram-negativas, como é o caso da *K. oxytoca* com a menor média dos halos e *K. ornithinolytica* que não mostrou sensibilidade nesta metodologia, o que justificaria estas desigualdades.

A velocidade de difusão das substâncias testadas pode influenciar na falta de correlação entre o tamanho do halo de inibição do crescimento e CIM. O que pode ocorrer devido à

massa molecular das substâncias, onde uma massa molecular baixa pode difundir-se mais rápido do que substâncias com massa maior, produzindo, dessa forma, halos de inibição maiores quando comparados com as substâncias de alta massa molecular (BLACK, 2002; REIS, 2006).

Os agentes antimicrobianos isolados de plantas podem agir ativando ou bloqueando reações enzimáticas, afetando diretamente a síntese enzimática em nível nuclear ou ribossomal ou mesmo alterando determinadas estruturas de membranas (GONÇALVES *et al.*, 2006).

Neste sentido, os mecanismos de ação dos extratos podem ser influenciados pela presença de vários componentes ativos, que podem ou não apresentar atividades físico-químicas que aumentam ou reduzem a atividade antibacteriana. Além disso, há vários fatores que podem influenciar na técnica de difusão em ágar, tais como: a presença de enzimas bacterianas, a composição do meio, a difusão da substância no meio, a densidade do inóculo, o período de incubação, a temperatura e a estabilidade das substâncias em uso (ESTRELA, 2000; REIS, 2006).

Para a maior parte dos microrganismos testados não há relatos na literatura sobre atividade antibacteriana da casca do *Stryphnodendron adstringens*, tais como: *P. mirabilis*, *E. sp.*, *S. sp.*, *Citrobacter*, *S. saprophyticus*, *E. agglomerans*, *K. oxytoca*, *K. ornithinolytica* e BGN-NF.

Já contra *S. aureus*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Shigella flexneri*, outras espécies de *Klebsiella*, assim como *Streptococcus mitis* e *Lactobacillus casei* foram confirmadas a inibição do crescimento destas bactérias por este extrato vegetal (ALVES *et al.*, 2000; ORLANDO, 2005; SOARES *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2007a;b).

Além de bactérias, foi comprovada ação contra leveduras, como *Candida sp.*, *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* (ISHIDA, 2006; ISHIDA *et al.*, 2006; ORLANDO, 2005; SILVA *et al.*; 2009; SOUZA, 2007).

No trabalho desenvolvido por Orlando (2005) com o extrato bruto da casca do *S. adstringens* para diversas espécies de microrganismos, todos apresentaram halo de inibição e os maiores halos foram verificados para as bactérias Gram-positivas na técnica de difusão em ágar; na determinação da CIM as menores concentrações foram verificadas para as Gram-negativas. As bactérias *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* mostraram-se sensíveis à ação da casca do *S. adstringens*, o que está de acordo com o presente trabalho. Na determinação da

CIM, a menor concentração foi observada para *P. aeruginosa*, *E. coli* e *S. aureus*, diferente dos resultados deste trabalho, com exceção para a *P. aeruginosa*.

Souza *et al.* (2007a,b) e Souza (2007) verificaram a atividade antibacteriana do extrato da casca do *S. adstringens* contra microrganismos e observaram que menores concentrações do extrato obtiveram maior atividade para *S. aureus* e *S. epidermidis*, e menor para *E. coli*. Além disso, os extratos apresentaram atividades antioxidante e antimicrobiana devido aos metabólitos secundários derivados da classe de taninos, que são os principais constituintes desta droga vegetal.

Taveira (2007) não constatou atividade antimicrobiana dos extratos das folhas de *S. adstringens* contra *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *C. albicans*, *Salmonella choleraesuis*, *E. faecalis*, pelo método de difusão em discos. O que está de acordo com os resultados deste trabalho em relação à inatividade do extrato para *S. aureus*, porém, contradiz com os resultados apresentados para *E. coli* e *P. aeruginosa*, onde foi demonstrada atividade para estes microrganismos.

Estes tipos de resultados contraditórios com relação à atividade antibacteriana de extratos vegetais são observados em outros trabalhos, e estão relacionados à falta de padronização dos testes e à utilização de metodologias diferentes (ALVES *et al.*, 2008; AMATO *et al.*, 2007). Amato *et al.* (2006) encontrou resultados diferentes de outros autores em relação à atividade antibacteriana da arnica (*Arnica montana*) para as cepas testadas, assim como Silva *et al.* (2007), com relação à atividade do cajueiro (*Anacardium occidentale*) contra cepas de *S. aureus* multirresistentes.

Neste trabalho, foi verificada uma maior atividade antibacteriana da casca do *S. adstringens*, quando comparada com a da folha, o que pode estar associada com os altos teores de taninos, que exercem diversas atividades biológicas, tais como: anti-séptica, antimicrobiana, anti-hemorrágica, antidiarréica, cicatrizante e antiinflamatória. Estes compostos são encontrados em maiores quantidades na casca e em menores nas folhas (ALVES *et al.*, 2000; GLASENAPP, 2007; NICIOLI, 2006; REBECCA *et al.*, 2002; REBECCA *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2002; SANTOS; MELLO, 2007; SOARES *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2007a,b; SOUZA, 2007).

Em relação aos extratos da *Hancornia speciosa* foi verificada inibição do crescimento bacteriano contra *E. agglomerans*, *S. epidermidis*, *P. mirabilis*, *S. sp.*, BGN-NF, *P. aeruginosa*, *C. sp.*, *E. sp.*, *E. coli* e *K. oxytoca* para a casca e a folha, e além destes, também se verificou para o extrato da folha ação contra *S. saprophyticus* e *S. aureus*.

Apesar da *H. speciosa* apresentar largo uso como planta medicinal, poucos trabalhos envolvem atividade antimicrobiana com esta planta. Santos *et al.* (2007) testaram atividade antimicrobiana do látex, no entanto não provaram atividade diante das cepas testadas. Santos *et al.* (2006) testaram a ação antimicrobiana dos óleos essenciais das folhas, e não encontrou atividade frente aos microrganismos testados.

A casca da *H. speciosa* é rica em taninos condensados e catequinas, substâncias relacionadas com diversas propriedades terapêuticas, entre elas a atividade antibacteriana. E nas folhas são encontrados flavonóides da classe rutina, que possuem atividade antiinflamatória, antiviral e antibacteriana (RODRIGUES, 2007; ZUANAZZI E MONTANHA, 2007).

Os microrganismos utilizados foram obtidos a partir de amostras positivas de uroculturas, de onde foram devidamente identificados. Os fatores determinantes para a utilização de bactérias isoladas de uroculturas neste trabalho foram: a importância das infecções do trato urinário para a saúde pública; a necessidade de ampliar as informações referentes à atividade antibacteriana dos extratos testados, sobretudo no que concerne à sua ação terapêutica neste tipo de infecção; e o aumento da resistência antimicrobiana desenvolvida nos últimos anos, principalmente de uropatógenos.

Para a casca do *S. adstringens* e a folha da *H. speciosa* foram observadas atividade antibacteriana contra todas as espécies de *Staphylococcus* testadas: *S. sp.*, *S. aureus*, *S. epidermidis* e *S. saprophyticus*. Para os extratos da folha do *S. adstringens* e casca da *H. speciosa* foi observada atividade contra *S. sp.* e *S. epidermidis*.

O gênero *Staphylococcus* são bactérias Gram-positivas que estão presentes na pele e nas membranas mucosas dos seres humanos. São patógenos importantes, causando um amplo espectro de doenças, desde infecção urinária até doenças da pele, dos tecidos moles, ossos e infecções oportunistas (MURRAY *et al.*, 2006).

A família *Enterobacteriaceae* constitui o maior e mais heterogêneo conjunto de bastonetes Gram-negativos clinicamente importantes. Fazem parte da microbiota intestinal da maioria dos animais, inclusive humanos, e estão relacionadas com diversas doenças humanas, como mais de 70% das infecções urinárias, de 30% a 35% das sepses, e muitas infecções intestinais e oportunistas (MURRAY *et al.*, 2006). No presente trabalho foi observada atividade antibacteriana de todos os extratos testados contra *P. mirabilis*, *E. coli*, *E. agglomerans*, *C. sp.* e *K. oxytoca*. Para o extrato da casca do *S. adstringens* e casca e folhas da *H. speciosa*, foi observada ação para *E. sp.* E além destes, ação da casca do *S. adstringens* para *K. ozaenae*.

Pseudomonas e bacilos não-fermentadores são bactérias Gram-negativas e constitui um grupo complexo de patógenos oportunistas de plantas, animais e do homem. *Pseudomonas aeruginosa* está relacionada à infecção do trato urinário complicada, principalmente em pacientes com cateter urinário. Além disto, está relacionada com muitos casos de infecção hospitalar e diversas doenças, como infecções pulmonares, da pele, ouvido, oculares, sepses e oportunistas (MURRAY *et al.*, 2006). Neste trabalho, para todos os extratos de plantas testados, foi observada atividade antibacteriana contra *P. aeruginosa* e BGN-NF.

Os resultados mostram atividade antibacteriana destas plantas coerente com o uso na medicina popular para o tratamento infecções do trato urinário, além de outras doenças como: diarreia, feridas, infecções, dores de garganta, antitérmico e como anti-séptico.

Escherichia coli, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus sp.*, compõem importantes uropatógenos relacionados tanto com ITU na comunidade quanto hospitalar, e relacionados com o sério problema da resistência microbiana. Estes microrganismos apresentaram sensibilidade a todos os extratos, com maior atividade à casca do *S. adstringens* e à folha da *H. speciosa*.

Neste sentido, verificou-se que os extratos da casca do *S. adstringens* e das folhas da *H. speciosa* possuem grande potencial antimicrobiano, destacando-se como espécies vegetais promissoras para a elaboração de produtos terapêuticos. Além disso, a presente pesquisa expõe a relevância dos extratos de plantas na pesquisa de novos agentes antimicrobianos, observando que os resultados apontam para a ação de um extrato, o qual é composto por uma mistura de diversas substâncias. Tais substâncias são responsáveis pelo seu efeito antibacteriano e, provavelmente, encontram-se diluídas (REIS, 2006).

Para o conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, são imprescindíveis pesquisas que isolem as substâncias responsáveis por esta atividade e a execução de testes toxicológicos *in vivo* para viabilizar seu emprego em doenças infecciosas (ORLANDO, 2005).

Até o momento se conhece uma pequena porcentagem dos compostos naturais terapêuticos procedentes das plantas, principalmente do bioma Cerrado. Mas este quadro está mudando no Brasil, a partir da implantação de políticas públicas que incentivam a pesquisa e o desenvolvimento com relação ao uso de plantas medicinais e de fitoterápicos, como a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS e a Política Nacional de Plantas Medicinais e de Fitoterápicos.

Por meio da pesquisa e do incentivo, estas substâncias podem ser empregadas diretamente ou como base para a síntese de novos princípios úteis no tratamento de infecções, assim como de outras doenças. Isto contribuirá para a ampliação de alternativas terapêuticas, a

importância da conservação dos recursos naturais, a valorização e uso sustentável da biodiversidade brasileira e o reconhecimento da legitimidade entre os saberes populares e tradicionais com a experimentação e validação científica, além de melhorar o acesso da população aos produtos terapêuticos e garantir a qualidade, eficácia e segurança de usos destas substâncias.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos é possível abordar as seguintes conclusões:

- ✓ O extrato que desenvolveu maior potencial antibacteriano foi o da casca do *Stryphnodendron adstringens*, seguido do extrato da folha da *Hancornia speciosa*.
- ✓ Os extratos da folha do *Stryphnodendron adstringens* e da casca da *Hancornia speciosa*, apesar de terem demonstrado pouca atividade para os microrganismos testados nas diferentes metodologias, não devem ter seus resultados desprezados, pois podem ser utilizados para outros fins além do emprego como antibacteriano.
- ✓ Entre as metodologias utilizadas, a difusão em ágar pela técnica de poços apresentou os melhores resultados quando comparados com os da CIM.
- ✓ Na difusão em ágar as bactérias Gram-positivas apresentaram mais sensibilidade, enquanto na CIM as Gram-negativas tiveram mais atividade para os extratos testados.
- ✓ Para a maior parte dos microrganismos testados não há relatos na literatura sobre atividade antibacteriana da casca do *Stryphnodendron adstringens*, tais como: *P. mirabilis*, *E. sp.*, *S. sp.*, *Citrobacter*, *S. saprophyticus*, *E. agglomerans*, *K. oxytoca*, *K. ornithinolytica* e BGN-NF. E para a folha contra *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *S. epidermidis*, *S. sp.*, BGN-NF, *C. sp.*, *E. agglomerans* e *K. oxytoca*.
- ✓ Para os extratos da *Hancornia speciosa*, foi observado inibição do crescimento bacteriano contra *E. agglomerans*, *S. epidermidis*, *P. mirabilis*, *S. sp.*, BGN-NF, *P. aeruginosa*, *C. sp.*, *E. sp.*, *E. coli* e *K. oxytoca* para a casca e a folha, e além destes, também se verificou para o extrato da folha ação contra *S. saprophyticus* e *S. aureus*. O que também não há relatos nas literaturas pesquisadas.
- ✓ *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus sp.*, compõem importantes uropatógenos e apresentaram sensibilidade a todos os extratos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, M. C. *et al.* Ocorrência de infecção urinária em pacientes de um hospital universitário. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n.2, p.215-219, 2007. Disponível em < <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=486513&indexSearch=ID> > Acesso em: 16 abr. 2009.
- ALMEIDA, S. P. de. *et al.* **Cerrado**: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998.
- ALÓS, J. I. Resistencia bacteriana a los antibióticos: the never ending story. **Medicina Clínica**, v. 103, n. 3, 1994.
- ALVES, E. G. *et al.* Estudo comparativo de técnicas de *screening* para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1224-1229, 2008. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/qn/v31n5/a52v31n5.pdf> > Acesso em: 14 jan. 2009.
- ALVES, T. M. A. *et al.* Biological screening of brasilian medicinal plants. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 3, p. 367-373, maio/jun. 2000. Disponível em < <http://www.scielo.br> > Acesso em: 01 abr. 2008.
- AMATO, A. L. *et al.* Atividade antimicrobiana *in vitro* de *Arnica montana*. **Estudos de Biologia**, v. 29, n. 67, p. 165-170, abr/jun. 2007. Disponível em < <http://ww2.pucpr.br/reol/index.php/BS?dd1=2507&dd99=pdf> > Acesso em: 17 maio 2009.
- ANDRADE, S. *et al.* Efeito modulador do extrato de *Stryphnodendron adstringens* Mart. (barbatimão) contra danos induzidos pela mitomicina C em camundongos. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v.1, n. 2, p. 127-130, 2006. Disponível em < http://ecotoxbrasil.org.br/index.php?option=com_rokdownloads&view=file&task=download&id=288%3Aefeito-modulador-do-extrato-de-stryphnodendron-adstringens-mart-barbatimocontra-danos-induzidos-pela-mitomicina-c-em-camundongos-pp&Itemid=26 > Acesso em : 12 nov. 2007.
- ANDREWS, J. M. Determination of minimum inhibitory concentration. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.48, p.5-16, 2001. Disponível em < http://jac.oxfordjournals.org/cgi/reprint/48/suppl_1/5 > Acesso em: 01 dez. 2009.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Curso Básico de Controle de Infecção Hospitalar**, Caderno B, Principais Síndromes Infecciosas Hospitalares. Brasília, 2000. Disponível em < www.cvs.saude.sp.gov.br/pdf/CIHCadernoB.pdf > Acesso em: 09 jun. 2009.
- _____. **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde**. Brasília, 2004.
- ARANGO, H. G. **Bioestatística**: teórica e computacional. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- ARRUDA, E. A. G. de. Infecção hospitalar por *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente: análise epidemiológica no HC-FMUSP. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 31, n. 5, p. 503-504,

1998. Disponível em < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86821998000500017&lng=pt&nrm=iso > Acesso em: 25 nov. 2009.

AYO, R. G. *et al.* Cytotoxicity and antimicrobial studies of 1,6,8-trihydroxy-3-methyl-anthraquinone (emodin) isolated from the leaves of *Cassia nigricans Vahl*. **Afr. J. Biotechnol**, v.6, n. 11, p. 1276-79, 2007. Disponível em < <http://www.academicjournals.org/AJB/PDF/pdf2007/4Jun/Ayo%20et%20al.pdf> > Acesso em: 29 set. 2009.

BAIL, L. *et al.*. Infecção do trato urinário: comparação entre o perfil de susceptibilidade e a terapia empírica com antimicrobianos. **RBAC**, v. 38, n.1, p. 51-56, 2006. Disponível em < http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/rbac/rbac_38_01/rbac3801_13.pdf > Acesso em: 06 abr. 2009.

BLACK, J. G. **Microbiologia: fundamentos e perspectivas**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

BORGES FILHO, H. C.; FELFILI, J. M. . Avaliação dos níveis de extrativismo da casca de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville no Distrito Federal, Brasil. **R. Árvore**, Viçosa-MG, v.27, n.5, p.735-745, 2003. Disponível em < <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=48827516> > Acesso em: 29 mar. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 971 de 03 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PN-PIC) no Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 04 maio 2006. Disponível em < <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/PNPIC.pdf> > Acesso em: 04 jun. 2009.

_____. **Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos**. Brasília, 2007. Disponível em < http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/politica_plantas_mediciniais_fitoterapia.pdf > Acesso em: 04 jun. 2009.

CAMPOS, M. P. **Análise do potencial antimicrobiano de extrato, frações e substâncias puras obtidas de *Piper solmsianum* C.D.C. VAR. *solmsianum* (PIPERACEAE)**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Vale do Itajaí, Itajaí-SC, 2006. Disponível em < http://www6.univali.br/tede/tede_busca/arquivo.php?codArquivo=263 > Acesso em: 05 nov. 2007.

CARVALHO, A. C. B. *et al.* Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T&C Amazônia**, ano V, n. 11, p. 26-32, 2007. Disponível em < http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/aspectos_legislacao.pdf > Acesso em: 16 abr. 2009.

CAVAGNARO, F. S.M. Infección urinaria en la infancia. **Rev Chil Infect**, v. 22, n. 2, p. 161-168, 2005. Disponível em < http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716-10182005000200007&script=sci_arttext&tlng=pt > Acesso em: 16 abr. 2009.

CAVALCANTE, M. F. *et al.* Síntese de 1,3,5-triazinas substituídas e avaliação da toxicidade frente a *Artemia salina* Leach. **Química nova**, v. 23, n. 1, 2000. Disponível em < www.scielo.br/pdf/qn/v23n1/2138.pdf > Acesso em: 29 maio 2009.

COELHO, F.B.R., *et al.* Levantamento etnofarmacológico realizado na comunidade Mumbuca localizada no Jalapão – TO. **Revista Eletrônica de Farmácia**, suplemento, v. 2, n. 2, p. 52-55, 2005. Disponível em < http://www.farmacia.ufg.br/revista/_pdf/vol2_2_supl/resumos/ref_v2_2_supl-2005_p52-55%20Coelho.pdf > Acesso em: 24 set. 2008.

COLARES, A. V. **Validação farmacológica da atividade antiofídica da espécie do Cerrado *Galactia glaucescens* (Kunth) (Leguminosae)**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências do Ambiente) - Universidade Federal do Tocantins, Palmas-TO, 2007.

CUNICO, M. M. *et al.* Atividade antimicrobiana do extrato bruto etanólico de raízes e partes aéreas de *Ottonia martiana* Miq. (*Piperaceae*). **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.14, n.2, jul./dez. 2004. Disponível em <www.scielo.br/pdf/rbfar/v14n2/a02v14n2.pdf> Acesso em: 24 abr. 2008.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: verdades e mentiras: o que os usuários e os profissionais de saúde precisam saber**. São Paulo: UNESP, 2007.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2. ed. rev. e ampl. - São Paulo: UNESP, 2002.

ELISABETSKY, E.; SOUZA, G. C. de. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas. In: SIMÕES, C. M. O. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. p.107-122.

ESTRELA, C. R. A. **Eficácia antimicrobiana de soluções irrigadoras de canais radiculares**. 2000. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, 2000. Disponível em < www.forp.usp.br/restauradora/Teses/...m/mest_cyntiaestrela.pdf > Acesso em: 24 nov. 2009.

FERREIRA, H.C. *et al.* Endothelium-dependent vasodilation induced by *Hancornia speciosa* in rat superior mesenteric artery. **Phytomedicine**, v.14, p.473-478, 2007. Disponível em < http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B7GVW-4MK60Y0-1&_user=3449932&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&view=c&_acct=C000060642&_version=1&_urlVersion=0&_userid=3449932&md5=e8637502940f76a292bb0cb73a3277d5 > Acesso em: 30 mar. 2009.

FERRO, D. **Fitoterapia: conceitos clínicos**. São Paulo: Atheneu, 2006.

GARCIA, E. S. Biodiversidade, biotecnologia e saúde. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 11 , n. 3, p. 495-500, 1995. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X1995000300025&lng=pt&nrm=iso > Acesso em: 31 maio 2008.

GLASENAPP, J. S. **Estrutura genética e fenóis totais de populações naturais de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*)**. 2007. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2007. Disponível em < http://www.tede.ufv.br/tedesimplificado/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=961 > Acesso em: 24 set. 2008.

GONÇALVES, A. L. *et al.* Atividade antimicrobiana de algumas plantas medicinais nativas contra bactérias encontradas em úlceras de decúbito. **O Biológico**, v. 68, p. 133, 2006. Disponível em < http://www.biologico.sp.gov.br/biologico/v68_supl_raib/133.pdf > Acesso em: 12 nov. 2007.

GUERRA, A. F. *et al.* **Avaliação agronômica da mangabeira**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2002. Disponível em < http://bbeletronica.cpac.embrapa.br/2002/posteres/p2002_09.pdf > Acesso em: 30 mar. 2009.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. p. 13-28.

GUILHERME, D. O. *et al.* Ecogeografia e etnobotânica da mangaba (*Hancornia speciosa*) no norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, s.1, p. 414-416, jul. 2007. . Disponível em < <http://www6.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/viewFile/418/343> > Acesso em: 25 ago. 2008.

GUIMARÃES, J. *et al.* A. Programa fitoterápico Farmácia Viva no SUS-Betim. In: 1ª EXPOGEST - MOSTRA NACIONAL DE VIVÊNCIAS INOVADORAS DE GESTÃO NO SUS, 2006. Disponível em < <http://www.portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/Jaqueline%20Guimaraes%20ok.pdf> > Acesso em: 16 set. 2009.

HARADA, T. N. **Correlação entre os ensaios de citotoxicidade em *Artemia salina* Leach e atividade antineoplásica sobre linhagens de células tumorais para algumas classes de produtos naturais**. 2009. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande-MS, 2009. Disponível em < http://www.cbc.ufms.br/tesesimplificado/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=514 > Acesso em: 30 jul. 2009.

HARWIG, J.; SCOTT, P. M. *Brine Shrimp (Artemia salina L.) Larvae* as a screening system for fungal toxins. **Appl. Microbiol**, v.21, n. 6, p.1011-1016, jun. 1971. Disponível em < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC377334/pdf/applmicro00116-0039.pdf> > Acesso em: 29 set. 2009.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. **J. Nat. Prod.**, v.59, p205-215, 1996. Disponível em < <http://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/np960040%2B?cookieSet=1> > Acesso em: 01 abr. 2009.

HEILBERG, I.P.; SCHOR, N. Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário – ITU. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.49, n.1, p. 109-16, 2003. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/ramb/v49n1/15390.pdf> > Acesso em: 25 abr. 2008.

HENRY, J. B. **Diagnósticos clínicos e tratamentos por métodos laboratoriais**. 20 ed. São Paulo: Manole, 2008.

HERZOG-SOARES, J. D. *et al.* Atividade tripanocida *in vivo* de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão verdadeiro) e *Caryocar brasiliensis* (pequi). **Rev. Bras.**

Farmacogn., v. 12, supl., p. 01-02, 2002. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v12s1/a01v12s1.pdf> > Acesso em: 16 abr. 2009.

HOLETZ, F. B. *et al.* Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

IANNI, A. M. Z. Biodiversidade e saúde pública: questões para uma nova abordagem. **Saúde e Sociedade**, v. 14, n. 2, p. 77-78, 2005. Disponível em < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-12902005000200009&lng=pt&nrm=iso > Acesso em: 31 maio 2008.

ISHIDA, K. **Atividade antifúngica de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville sobre leveduras de isolados clínicos.** 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR, 2006. Disponível em < <http://www.dominiopublico.gov.br/download/texto/cp071659.pdf> > Acesso em: 23 mar. 2009.

ISHIDA, K. *et al.* Influence of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on growth and virulence factors of *Candida albicans*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 58, p.942-949, 2006. Disponível em < <http://jac.oxfordjournals.org/cgi/reprint/58/5/942.pdf> > Acesso em: 01 abr. 2009.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 147-153, 2005.

KOCH, V. H.; ZUCCOLOTTO, S. M. C. Infecção do trato urinário: em busca das evidências. **Jornal de Pediatria**, v.79, s.1, 2003. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/jped/v79s1/v79s1a11.pdf> > Acesso em: 25 abr. 2008.

KONEMAN, E. *et al.* **Diagnóstico microbiológico:** texto e atlas colorido. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2008.

LAPA, A. J. *et al.* Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: SIMÕES, C. M. O. (Org.). **Farmacognosia:** da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. p. 247-262.

LEITE, J. P. V. **Fitoterapia:** bases científicas e tecnológicas. São Paulo: Editora Atheneu, 2009.

LHULLIER, C. *et al.* Avaliação de extratos de macroalgas bênticas do litoral catarinense utilizando o teste de letalidade para *Artemia salina*. **Rev. Bras. Farmacogn. Braz J. Pharmacogn**, v.16, n.2, abr/jun. 2006. Disponível em < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-695X2006000200005&script=sci_arttext > Acesso em: 29 set. 2009.

LIMA, J.M. *et al.* Prospecção fitoquímica de *Sonchus oleraceus* e sua toxicidade sobre o microcrustáceo *Artemia salina*. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 27, n. 1, p. 7-11, 2009. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/pd/v27n1/a02v27n1.pdf> > Acesso em: 10 ago. 2009.

LONITZER, A. Botanicon. Plantarum Historieae... Haeredes Christiani Egenolphi, Frankfurt, 1565. il.

LÓPEZ-MUÑOZ, F. et al. "The herbs that have the property of healing...": The phytotherapy in Don Quixote. **Journal of Ethnopharmacology**, v.106, n. 3, p. 429-441, 2006. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com> > Acesso em: 28 jan. 2010. il.

LOPES, W. B. et al. Desenvolvimento de um método alternativo ao uso de animais de laboratório para avaliação da toxicidade de extratos vegetais. **Revista Eletrônica Horizonte Científico**, v.1, p.1-11, 2002. Disponível em < <http://www.propp.ufu.br/revistaeletronica/edicao2002/B/Desenvolvimento.PDF>> Acesso em: 10 ago. 2009.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 3 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, v. 1, 2000.

LUCCHETTI, G. et al. Infecções do trato urinário: análise da frequência e do perfil de sensibilidade dos agentes causadores de infecções do trato urinário em pacientes com cateterização vesical crônica. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 41. n.6, p. 383-9, dez. 2005. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/jbpmL/v41n6/a03v41n6.pdf> > Acesso em: 25 abr. 2008.

MACEDO, F. M. de. et al. Triagem fitoquímica do barbatimão *Stryphnodendron adstringens* (Mart) Coville. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, s.2, p. 1166-1168, jul. 2007. Disponível em < <http://www6.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/viewFile/1026/765>> Acesso em: 27 mar. 2009.

MACEDO, M.; FERREIRA, A. R. Plantas hipoglicemiantes utilizadas por comunidades tradicionais na Bacia do Alto Paraguai e Vale do Guaporé, Mato Grosso - Brasil. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 14, s.1, p.45-47, 2004. Disponível em < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-695X2004000300017&script=sci_arttext > Acesso em: 25 ago. 2008.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v.25, n.3, p.429-438, 2002. Disponível em < <http://quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2002/vol25n3/15.pdf> > Acesso em: 05 nov. 2007.

MAIA, C. N. **Análise fitoquímica e atividade antibacteriana "in vitro" de extratos de plantas do Cerrado**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros-MG, 2008. Disponível em < www.ppgcb.unimontes.br/mod/resource/view.php?id=171 > Acesso em: 01 dez. 2009.

MENDES, N. M. et al. Ensaios preliminares em laboratórios para verificar a ação moluscicida de algumas espécies da flora brasileira. **Rev. Saúde públ.**, São Paulo, v.18, p.348-54, 1984. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/rsp/v18n5/03.pdf>> Acesso em: 01 abr. 2009.

MEYER, B. N. et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Med.**, v.45, p. 31-34, 1982.

MMA. Ministério do Meio Ambiente. Cobertura vegetal do Bioma Cerrado. Disponível em <<http://www.mma.gov.br/sitio/index.php?ido=conteudo.monta&idEstrutura=201&idConteudo=8447&idMenu=8981>> Acesso em: 16 set. 2009. il.

_____. O Bioma Cerrado. 2009b. Disponível em <
<http://www.mma.gov.br/sitio/index.php?ido=conteudo.monta&idEstrutura=201&idConteudo=8447&idMenu=8981> > Acesso em: 09 set. 2009.

_____. Secretaria de Biodiversidades e Florestas. PORTALBio. Biodiversidade. 2009a. Disponível em <
<http://www.mma.gov.br/sitio/index.php?ido=conteudo.monta&idEstrutura=72&idMenu=2338> > Acesso em: 09 set. 2009.

MORAES, T. M. *et al.* *Hancornia speciosa*: indications of gastroprotective, healing and anti-*Helicobacter pylori* actions. **Journal of Ethnopharmacology**, n.120, p.161-168, 2008. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com> > Acesso em: 30 mar. 2009.

MS. Ministério da Saúde. Fitoterapia. Disponível em <
http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1336> Acesso em 01 fev. 2010.

MURRAY, P. R. *et al.* **Microbiologia Médica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

NASCIMENTO, J.E. *et al.* Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (*Phyllanthaceae*). **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 29, n.2, p. 145-150, 2008. Disponível em <
http://www.fcfar.unesp.br/revista_pdfs/vol29n2/trab28.pdf> Acesso em: 20 jul. 2009.

NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico**: Norma Aprovada – 6. ed. Norma M7-A6 do NCCLS. Wayne, Pennsylvania: NCCLS, 2003a. Disponível em < <http://www.anvisa.gov.br> > Acesso em: 01 mar.2009.

_____. **Padronização dos testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão**: Norma Aprovada – 8. ed. Norma M2-A8 do NCCLS. Wayne, Pennsylvania: NCCLS, 2003b. Disponível em < <http://www.anvisa.gov.br> > Acesso em: 01 mar. 2009.

NICOLI, P. M. **Micropropagação e aspectos fitoquímicos de calos de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] – *Fabaceae***. 2006. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2006. Disponível em <
http://bibtede.ufla.br/tede//tde_busca/arquivo.php?codArquivo=262 > Acesso em: 25 ago. 2008.

NUNES, G.P. *et al.* Plantas medicinais comercializadas por raizeiros no Centro de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.13, n.2, jul./dez. 2003. Disponível em < http://www.sbfgnosia.org.br/admin/pages/revista/artigo/arquivos/17-arquivo-83_92.pdf > Acesso em: 06 abr. 2009.

OLIVEIRA, I. G. *et al.* Plantas medicinais utilizadas na farmacopéia popular em Crato, Juazeiro e Barbalha (Ceará, Brasil). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, s. 1, p. 189-191, jul. 2007. Disponível em <
<http://www6.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/187/188> > Acesso em: 06 abr. 2009.

OMS – Organización Mundial de La Salud. **¿Es segura la medicina tradicional?** Pregunte a los expertos, 2005. Disponível em < <http://www.who.int/features/qa/20/es/index.html> > Acesso em: 22 ago. 2009.

ORLANDO, S. C. **Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico bruto da casca do *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Barbatimão).** 2005. Dissertação (Mestrado em Promoção de Saúde) - Universidade de Franca, Franca-SP, 2005. Disponível em < http://www.unifran.br/mestrado/promocaoSaude/dissertacoes/2005/SANDRA_CHRISTINA_ORLANDO.pdf > Acesso em: 20 nov. 2007.

PALOMINO, J. C. *et al.* Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in mycobacterium tuberculosis. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 46, n. 8, p. 2720-2722, 2002. Disponível em < <http://aac.asm.org/cgi/reprint/46/8/2720> > Acesso em: 02 dez. 2009.

PANIZZA, Sylvio. Plantas que curam: cheiro de mato. 28 ed., São Paulo: IBRASA, 1997.

PELCZAR Jr, M. J.; CHAN, E.C.S; KRIEG, N. R. Microbiologia: conceitos e aplicações. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996.

PRETTO, J. B. **Potencial antimicrobiano de extratos, frações e compostos puros obtidos de algumas plantas da flora catarinense.** 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí-SC, 2005. Disponível em < <http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/PesquisaPeriodicoForm.do> > Acesso em: 05 nov. 2007.

QUEIROZ, C. R. A. A. *et al.* Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **R. Árvore**, Viçosa-MG, v.26, n.4, p.485-492, 2002. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/rarv/v26n4/a11v26n4.pdf> > Acesso em: 27 mar. 2009.

RAUHA, J. P. *et al.* Antimicrobial effects of finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **International Journal of Food Microbiology**, v.56, p. 3-12, 2000. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com>> Acesso em: 24 nov. 2009.

REBECCA, M. A. *et al.* Effect of *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) on energy metabolism in the rat liver. **Toxicology Letters**, v.143, n.1, p.55-63, jun. 2003. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com> > Acesso em: 26 mar. 2009.

REBECCA, M. A. *et al.* Toxicological studies on *Stryphnodendron adstringens*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.83, p.101/104, 2002. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com>> Acesso em: 26 mar. 2009.

REIS, M. O. R. **Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do extrato hidroalcoólico das folhas de *Persea gratissima Gaertn* – Abacateiro – *Lauraceae*.** 2006. Dissertação (Mestrado em Promoção de Saúde), Universidade de Franca, Franca-SP, 2006. Disponível em <http://www.unifran.br/mestrado/promocaoSaude/dissertacoes/2006/MARCOS_OSORIO_OCCA_DOS_REIS.pdf> Acesso em: 05 nov. 2007.

REIS, M. S. *et al.* Diversidade e domesticação de plantas medicinais. In: SIMÕES, C. M. O. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. p.45-74.

REMONATTO, G. **Correlação entre concentração inibitória mínima e níveis urinários de antimicrobianos para o tratamento de infecções no trato urinário**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2006. Disponível em < <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10383/000593457.pdf?sequence=1> > Acesso em: 17 maio 2009.

RODRIGUES, C. M. *et al.* Constituintes químicos das cascas de *Hancornia speciosa* Gom.(*Apocynaceae*). In: 29ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, **Anais...**2006. Disponível em < <http://sec.s bq.org.br/cd29ra/resumos/T1814-2.pdf> > Acesso em: 26 ago. 2008.

RODRIGUES, C. M. *et al.* Extração por fase sólida e identificação por HPLC de catequinas presentes nas cascas de *Hancornia speciosa* (*Apocynaceae*). In: 27ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA E XXVI CONGRESSO LATINOAMERICANO DE QUÍMICA, **Anais...**,2004. Disponível em < <http://www.biota.org.br/publi/banco/index?show+62370610> > Acesso em: 02 set. 2008.

RODRIGUES, C. M.. **Caracterização quali e quantitativa de metabólitos secundários em extratos vegetais**. 2007. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara-SP, 2007. Disponível em < http://www.biota.org.br/publi/banco/docs/14119_1179771294.pdf > Acesso em: 30 mar. 2009.

ROSA, C. *et al.* Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciência & Saúde Coletiva** (Online), v. 1, p. 0863/2007, 2008. Disponível em < http://www.abrasco.org.br/cienciaesaudecoletiva/artigos/artigo_int.php?id_artigo=2732 > Acesso em: 05 jun. 2009.

RUIZ, A. L. T. G. *et al.* Avaliação da atividade tóxica em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata* de extratos de quatro espécies do gênero *Eleocharis* (*Cyperaceae*). **Rev. Bras. Farmacogn. Braz J. Pharmacogn.**, v.15, n.2, abr./jun. 2005. Disponível em < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-695X2005000200005&script=sci_arttext > Acesso em: 30 jul. 2009.

SANTOS, E. A. *et al.* Constituintes voláteis das folhas de *Hancornia speciosa* (*Apocynaceae*). 29ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, **Anais...**, 2006. Disponível em < <http://sec.s bq.org.br/cd29ra/resumos/T0056-1.pdf> > Acesso em: 25 ago. 2008.

SANTOS FILHO, L. S. **Manual de Microbiologia Clínica**. 4. ed. João Pessoa: Editora Universitária/UFPB, 2006.

SANTOS, L. B. G. S. **Incidência e caracterização de amostras de *Enterococcus* e *Staphylococcus saprophyticus* em infecção urinária comunitária**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências – Microbiologia), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de

- Janeiro, 2007. Disponível em <
<http://www.dominiopublico.gov.br/download/texto/cp025198.pdf>> Acesso em: 25 abr. 2008.
- SANTOS, P.O. *et al.* Investigação da atividade antimicrobiana do látex da mangabeira (*Hancornia speciosa* GOMEZ). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.9, n.2, p.108-111, 2007. Disponível em <
http://www.ibb.unesp.br/servicos/publicacoes/rbpm/pdf_v9_n2_2007/artigo14_v9n2_108-111.pdf> Acesso em: 02 jul. 2008.
- SANTOS, S. C. *et al.* Tannin composition of barbatimão species. **Fitoterapia**, v.73, p. 292-299, 2002. Disponível em < <http://www.sciencedirect.com> > Acesso em: 29 abr. 2008.
- SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. p. 615-656.
- SARTORI, M. R. K. **Atividade antimicrobiana de frações de extratos e compostos puros obtidos das flores da *Acmela brasiliensis* Spreng (*Wedelia paludosa*) (Asteraceae)**. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí-SC, 2005. Disponível em <
http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetailObraForm.do?select_action=&co_obra=135733> Acesso em: 05 nov. 2007.
- SHIGEMURA, K *et al.* Complicated urinary tract infection caused by *Pseudomonas aeruginosa* in a single institution (1999–2003). **International Journal of Urology**, v. 13, p. 538–542, 2006. Disponível em <
<http://www3.interscience.wiley.com/journal/118564640/abstract>> Acesso em: 16 abr. 2009.
- SILVA JÚNIOR, J. F. A cultura da mangaba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 1, 2004. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452004000100001&lng=pt&nrm=iso> Acesso em: 02 jul. 2008.
- SILVA, F. M. *et al.* Evaluation of the antifungal potential of Brazilian Cerrado medicinal plants. **Mycoses**, (Online) v.52, n. 6, p. 511-517, jan. 2009. Disponível em <
<http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/121638844/PDFSTART>> Acesso em: 27 mar. 2009.
- SILVA, J. G. *et al.* Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. Em amostras multirresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Rev. Bras. Farmacogn. Braz J. Pharmacogn.** v. 17, n. 4, p. 572-577, out./dez. 2007.
- SILVA, J. O.; SOUZA, P. S.; Levantamento etnobotânico das plantas medicinais utilizadas pela população da vila Canaã região sudoeste - Goiânia, Goiás. [2008]. (Online). Disponível em <
http://ananguera.edu.br/home/index2.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=225&Itemid=191> Acesso em: 06 abr. 2009.
- SILVA, S. M. C. *et al.* Produção da mangabeira (*Hancornia Speciosa* Gomes) irrigada e adubada nas condições do estado de Goiás. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 22, n. 2, p. 43-51,

maio/ago. 2006. Disponível em <
<http://www.biosciencejournal.ufu.br/viewarticle.php?id=381> > Acesso em: 02 jul. 2008.

SIMÕES, C. M. O. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007.

SIQUEIRA, J. M. *et al.* Estudo fitoquímico de *Unonopsis lindmanii* - *Annonaceae*, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina* Leach. **Química nova**, v.21, n.5, 1998. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/qn/v21n5/2923.pdf> > Acesso em: 29 jul. 2009.

SOARES, L. A. *et al.* Isolamento das bactérias causadoras de infecções urinárias e seu perfil de resistência aos antimicrobianos. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, Rio de Janeiro, v.2, n. 6, jul/set. 2006. Disponível em <
http://www.sbmfc.org.br/Articles/Documents/6517e805/03_rbmfc_06_artigo_01.pdf >
 Acesso em: 07 nov. 2007.

SOARES, S. M. T. S. **Estudo da resistência aos antimicrobianos em amostras de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas em hospitais da cidade de Niterói-RJ**. 2005. Dissertação (Mestrado em Patologia) - Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, 2005. Disponível em < http://www.bdtd.ndc.uff.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=325 >
 Acesso em: 04 dez. 2009.

SOARES, S. P. *et al.* Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre microorganismos da cárie dental. **Rev. Odonto Ciênc.**, v.23, n. 2, p.141-144, 2008. Disponível em
 <<http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/fo/article/viewFile/1140/3031>> Acesso em:
 24 set. 2008.

SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M.. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. **Acta bot. bras.**, v. 20, n.1, p.135-142, 2006. Disponível em
 <<http://www.scielo.br/pdf/abb/v20n1/13.pdf> > Acesso em: 06 abr. 2009.

SOUZA, L. M.. **O diabo e a Terra de Santa Cruz: feitiçaria e religiosidade popular no Brasil colônia**. São Paulo: Companhia das Letras, 1986.

SOUZA, T. M. de. **Estudo farmacognóstico e avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica de preparações cosméticas contendo o extrato de folhas de *Myrciaria cauliflora* O. Berg. (MYRTACEAE) e de casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (LEGUMINOSAE-MIMOSOIDAE)**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual de Paulista “Júlio Mesquita”, Araraquara-SP, 2007. Disponível em < <http://www.dominiopublico.gov.br/download/texto/cp025398.pdf> > Acesso em: 24 set. 2008.

SOUZA, T. M. *et al.* Avaliação da atividade anti-séptica de extrato seco de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e de preparação cosmética contendo este extrato. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 71-75, 2007b. Disponível em <
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2007000100015&lng=pt&nrm=iso > Acesso em: 20 maio 2008.

SOUZA, T.M. *et al.* Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (*Leguminosae-Mimosoidae*). **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 28, n.2, p.221-226, 2007a. Disponível em < http://www.fcfar.unesp.br/revista_pdfs/vol28n2/trab13.pdf > Acesso em: 19 jun. 2008.

STAMM, A. M. N. F. **Infecção do trato urinário: aspectos no diagnóstico e tratamento.** Florianópolis: Editora da UFSC, 2003.

STRASINGER, S. K. **Uroanálise e fluidos biológicos.** 3. ed. São Paulo: Premier, 2000.

TAVEIRA, C. C. **Ação antimicrobiana de extratos de plantas do Cerrado e isolamento de substância ativa de *Kielmeyera coriácea*.** 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2007. Disponível em < <http://www.dominiopublico.gov.br/download/texto/cp034497.pdf> > Acesso em: 23 mar. 2009.

TOMAZZONI, M. I. *et al.* Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto Contexto Enferm**, Florianópolis, v. 15, n. 1, p. 115-121, 2006. Disponível em < http://www.portaleducacao.com.br/arquivos/arquivos_sala/media/objeto_de_aprendizagem_fitoterapia_popular.pdf > Acesso em: 16 abr. 2009.

TORTORA, G. J *et al.* **Microbiologia.** 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

TUBALDINI, F. R. *et al.* Avaliação da atividade mutagênica da plantas *Hancornia speciosa* através de ensaios de mutação gênica reversa com *Salmonella typhimurium*. In: 51^a JORNADA FARMACÊUTICA, **Anais...**, ago, 2004. Disponível em < <http://www.biota.org.br/publi/banco/index?show+86616086> > Acesso em: 30 mar. 2009.

UJAVARI, E. C. **A história e suas epidemias: a convivência do homem com os microrganismos.** 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Senac Rio; São Paulo: Editora Senac, 2003.

VIEIRA NETO, O. M. V. Infecção do trato urinário. In: SIMPÓSIO - URGÊNCIAS E EMERGÊNCIAS INFECCIOSAS. CAPÍTULO IV. **Anais...**Ribeirão Preto, v.36, p. 365-369, abr./dez. 2003. Disponível em < http://www.fmrp.usp.br/revista/2003/36n2e4/22%20infeccao_trato_urinario.pdf > Acesso em: 08 nov. 2007.

VILA VERDE, G.M. *et al.* Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do Cerrado utilizadas pela população de Mossâmedes (GO). **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 13, p. 64-66, 2003. Disponível em < http://anhanguera.edu.br/home/index2.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=225&Itemid=191 > Acesso em: 30 mar. 2009.

WHO - World Health Organization. **General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine**, 2000. Disponível em < <http://www.who.int/medicines/publications/traditionalpolicy/en/index.html> > Acesso em: 16 abr. 2009.

WHO - World Health Organization. **Traditional medicine**, fact sheet n.134, 2008. Disponível em < <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/> > Acesso em: 22 ago. 2009.

WISSENBACH, M. C. C. Da escravidão à liberdade: dimensões de uma privacidade possível. In: NOVAIS, F. A.; SEVCENKO, N. (Org.). **História da vida privada no Brasil**. República: da belle époque à era do rádio. São Paulo: Companhia das Letras, 1998. p.70-73. (História da vida privada no Brasil, v.3)

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O. (Org.). **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007.