



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE PESQUISA LEÔNIDAS E MARIA DEANE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE SOCIEDADE
E ENDEMIAS NA AMAZÔNIA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA,
ANTIFÚNGICA E ANTIMALÁRICA DE EXTRATOS, FRAÇÕES
E COMPOSTO OBTIDOS DE PLANTAS DA REGIÃO
AMAZÔNICA.

IVANILDES DOS SANTOS BASTOS

MANAUS

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE PESQUISA LEÔNIDAS E MARIA DEANE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE SOCIEDADE
E ENDEMIAS NA AMAZÔNIA

IVANILDES DOS SANTOS BASTOS

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA,
ANTIFÚNGICA E ANTIMALÁRICO DE EXTRATOS, FRAÇÕES
E COMPOSTO OBTIDOS DE PLANTAS DA REGIÃO
AMAZÔNICA.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia da Universidade Federal do Amazonas em parceria com Instituto Leônidas e Maria Deane – ILMD/Fiocruz Amazônia e Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia, área de concentração Biologia dos agentes infecciosos e parasitários.

Orientador: Dra. Patrícia Puccinelli Orlandi

Co-Orientador: Dr. Fábio Alessandro Pieri

MANAUS
2016

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Bastos, Ivanildes dos Santos
B327a Avaliação da atividade antibacteriana, antifúngica e antimalárico de extratos, frações e composto obtidos de plantas da região amazônica / Ivanildes dos Santos Bastos. 2016
160 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Patrícia Puccinelli Orlandi
Coorientador: Fábio Alessandro Pieri
Dissertação (Mestrado em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Plantas. 2. Amazônia. 3. Resistência. 4. Antimicrobianos. 5. patógenos . I. Orlandi, Patrícia Puccinelli II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

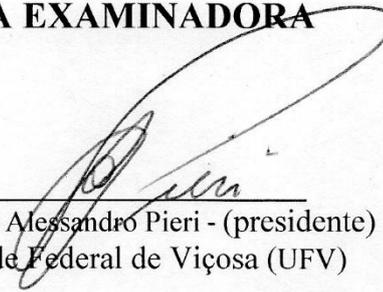
IVANILDES DOS SANTOS BASTOS

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA, ANTIFÚNGICA
E ANTIMALÁRICA DE EXTRATOS, FRAÇÕES E COMPOSTOS
OBTIDOS DA REGIÃO AMAZÔNICA.

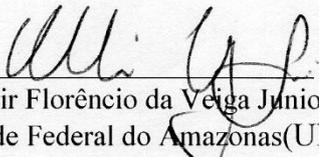
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia, da Universidade Federal do Amazonas, em convênio com o Centro de Pesquisa Leônidas & Maria Deane (CPqLMD-FIOCRUZ) e Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia.

Aprovado em 28 de agosto de 2015

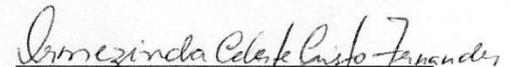
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Fabio Alessandro Pieri - (presidente)
Universidade Federal de Viçosa (UFV)



Prof. Dr. Valdir Florêncio da Veiga Junior (membro)
Universidade Federal do Amazonas (UFAM)



Profa. Dra. Ormezinda Celeste Cristo Fernandes (membro)
Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD/FIOCRUZ)

Dedico este trabalho:

Dedico a Deus que mesmo quando não tinha forças para continuar, sei que Ele me carregava no colo, e mesmo achando que não merecia tanto cuidado e amor de sua parte, sei que sempre estará comigo, e sempre me surpreende nos momentos que não vejo soluções, mas ele mesmo diz: "Nem olhos viram, nem ouvidos ouviram, nem jamais penetrou em coração humano o que Deus tem preparado para aqueles que o amam." **1 Coríntios 2:9**

Dedico ao meu esposo Edenilson Bastos por ser uns dos motivos da minha vitória.

AGRADECIMENTO

Agradecer é pouco, diante de todos os auxílios, apoio e carinho que tive durante todo percurso. A jornada foi difícil, tinha hora que pareciam não ter fim e várias vezes me deparei na frente do espelho e nem mesmo eu me conhecia, mas tinha certeza que no final colheria bons frutos;

Agradeço a Deus que me deu forças e me abençoou com saúde e a superar tantos obstáculos e alcançar tal objetivo;

Ao meu esposo **Edenilson Bastos** pelo amor e compreensão e por não medir esforços em fazer todo o possível e impossível para que eu alcance meus objetivos de vida;

À minha **orientadora Prof^a. Dra. Patrícia Puccinelli Orlandi** pela orientação, oportunidade e atenção necessária e conhecimento compartilhado no decorrer desta pesquisa;

Ao meu **co-orientador Dr. Fábio Alessandro Pieri** pelas colaborações das correções da dissertação e contribuições no desenvolvimento do trabalho;

Ao Dr. **Paulo Nogueira** pela contribuição no desenvolvimento do trabalho.

À Dra. **Stefanie Costa Pinto Lopes** pela ajuda nas análises laboratoriais, montagens dos gráficos, tabelas e correções da dissertação. Se não tivesse a sua ajuda, seria mais difícil concluir algumas etapas. E estarei a disposição a qualquer momento para ajudar no que for necessário, pois tirou um tempo para se dedicar nessa fase que é tao importante para aminha carreira, muito obrigado.

A todos da equipe do grupo de pesquisa do **Laboratório de Diagnóstico e Controle de Doenças Infecciosas na Amazônia**. Especialmente aos pesquisadores de iniciação científica: **Fernanda Batalha, Lucas Barbosa, Paula Kamila, Deyse Samarah e Karla Camurça** e a bolsista **Lorane Rabelo**. A mestranda e amiga **Fhabiane Bezerra** pelas caronas e ajuda nas análises de *Plasmodium*. E aos meus amigos **Yury Chaves e Diego Rabelo**, obrigado pela força e ajuda nas análises e

correções do manuscrito, especialmente pela ajuda na famosa Curva de Morte, se não fosse vocês, não teria terminado.

A todos do grupo de pesquisa de Química de Biomoléculas da Amazônia (Q-BiomA) pela ajuda. Especialmente as pesquisadoras de iniciação científica: **Yasmim, Isadora, Virlane, Allane**. A mestranda **Jéssika**. E aos doutores: **Lamarão e Klenicy**. Mas serei eternamente grata ao Prof. Dr. **Valdir Florêncio da Veiga Junior** pelas amostras concedidas para a minha dissertação e espaço cedido no Laboratório de Produtos Naturais, se não fosse você e todos do seu grupo talvez seria muito difícil concluir esse sonho;

A todos os meus professores e coordenadores do curso de pós-graduação pela oportunidade e contribuições;

As secretarias/SECA, **Rosinete, Renata e Hellen**, pela competência e disponibilidade em sempre orientar deveres de cada aluno. Muito obrigada vocês são demais;

Ao Dr. **Emerson silva lima** pelo espaço cedido no seu laboratório e doutoranda **Patrícia Danielle Oliveira** pela ajuda nas análises.

Ao Instituto de pesquisa Leônidas e Maria Deane – **ILMD/FIOCRUZ** pelo espaço cedido para desenvolvimento da pesquisa. À plataforma de citometria de fluxo (RPT08J) FIOCRUZ- Amazônia (ILMD), pelas análises dos testes de antimaláricos.

À coleção de fungos da Amazônia (CFAM) pela cepa cedida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa (**FAPEAM**) pela bolsa concedida;

À minha amiga **Ana Paula** que sempre me socorria nos momentos mais difíceis, principalmente pelas caronas e ajuda na formatação do manuscrito. E a sua Filha Ana carolina e toda a sua família. Conhecer vocês, foi um presente de Deus, muito obrigado por fazerem parte desse momento tão especial.

A **todos os amigos** que de alguma forma me apoiaram e torceram por mim e embora seus nomes não sejam citados não são menos importantes;

AGRADEÇO

“Sem sonhos, as perdas se tornam insuportáveis, as pedras do caminho se tornam montanhas, os fracassos se transformam em golpes fatais.

Mas, se você tiver grandes sonhos...

Seus sonhos produzirão crescimento,

Seus desafios produzirão oportunidades,

Seus medos produzirão coragem”.

Autor: Augusto Cury

RESUMO

O grande aumento da resistência de bactérias, fungos e parasitas aos antimicrobianos convencionais disponíveis vêm se tornando um problema de saúde global gerando um impacto negativo sobre o tratamento destas infecções e com isto gera uma necessidade urgente de novas abordagens terapêuticas. Dentro desse contexto, os estudos com plantas representam prioridade na Amazônia, pela variedade e riqueza de sua flora. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar diversos extratos e frações em diferentes solventes, provenientes de vinte e cinco espécies de plantas amazônicas contra treze cepas de bactérias gram-positivas e vinte quatro Gram-negativas, uma cepa de *Candida albicans* e uma cepa de *Plasmodium falciparum* (FCR3). Das vinte cinco espécies de plantas, quinze apresentaram atividades, sendo que onze apresentam atividades frente as bactérias Gram-positivas, nove contra as Gram-negativas, nove apresentaram atividades contra *Candida albicans* e quatro contra *Plasmodium falciparum*. Na triagem bacteriana obteve-se resultados mais promissoras para os extratos de *Caryocar villosum* contra as bactérias Gram-positivas *Bacillus liquiniformes*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenis* e Gram-negativas *Yersinia enterocolítica*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella typhi* e *Shigella flexneri*. Outras amostras que demonstram excelente atividades foram os extratos e frações e isolado composto de *Aniba panurensis* frente as bactérias Gram-positivas *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus resistente a metilicina* (MRSA), *Staphylococcus simulans* e *Streptococcus agalactiae*. E as frações em diclorometano dos galhos de *Aniba ferrea* e *Ocotea leucoxylon* frente *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus simulans* e a fração em acetato de etila dos galhos de *Aniba parviflora* frente *Staphylococcus simulans*. Na triagem da atividade antifúngica, os melhores resultados obtidos, foram para o extrato etanólico das sementes e cascas de *Ingá edulis* e o extrato hidroalcoólico das sementes de *Garcinia madruno* e extrato etanólico dos galhos de *Ocotea leucoxylon*. Na triagem contra *Plasmodium falciparum* os melhores resultados obtidos foram demonstrados nos extratos de *Theobroma grandiflorum*, *Euterpe precatória*, *Garcinia madruno* e *Platonia insignis*. Os dados aqui relatados são de suma importância, levando em conta a importância médica dos micro-organismos, pois fornecem evidências de que os extratos, frações e isolado possam ser considerados futuros agentes antimicrobianos ou ajudem na ação bactericida de *Bacillus liquiniformes*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus resistente a metilicina* (MRSA), *Streptococcus simulans*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenis*, *Yersinia enterocolítica*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella typhi* e *Shigella flexneri* e contra *Candida albicans* e *Plasmodium falciparum*.

Palavra-chave: Plantas, Amazônia, Resistência, Antimicrobianos, *Candida albicans*, *Plasmodium falciparum*, Gram-positivas, Gram-negativas.

ABSTRACT

The great increase of resistance of bacteria, fungi and parasites to conventional antimicrobial available has become a problem of global health generating a negative impact on the treatment of these infections and with this generates an urgent necessity for new therapeutic approaches. Within this context, the studies with plants represent priority in Amazonia, for the variety and richness of its flora. This way the purpose of this work was to evaluate different extracts and tranches in different solvents, from twenty-five species of amazonian plants against thirty seven bacterial strains, a strain of *Candida albicans* and one strain of *Plasmodium falciparum* (FCR3). Of the twenty-five species of plants, fifteen presented activities, being that eleven showed activity against *Candida albicans* and four against *Plasmodium falciparum*. In bacterial screening was obtained results more promising for the extracts of *Caryocar villosum* against Gram-positive bacteria *Bacillus liquiniformes*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pyogenis* and Gram-negative *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella typhi* and *Shigella flexneri*. Other samples that demonstrate excellent activities were the extracts and fractions and isolated composed of *Aniba panurensis* front the Gram-positive bacteria *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus simulans* and *Streptococcus agalactiae*. And the fractions in DCM branches of *A. rail* and *Octoea leucoxylon* front *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus simulans* and fração ethyl acetate branches of *Aniba parviflora* front *Streptococcus simulans*. In the screening of antifungal activity, the best results were for the ethanolic extract of *Inga edulis* seeds and husks and the hydroalcoholic extract of seeds of *Garcinia madruno* and ethanolic extract of the stems of *Ocotea leucoxylon*. In the screening against *Plasmodium falciparum* the best results were demonstrated in extracts of *Theobroma grandiflorum*, *Euterpe precatória*, *Garcinia madruno* and *Platonia insignis*. And the data reported here are of the utmost importance, taking into account the importance of medical micro-organisms, because they provide evidence that the extracts, fractions and isolated may be considered future antimicrobial agents or help in lockable bactericide of *Bacillus liquiniformes*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, MRSA, *Streptococcus simulans*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenic*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella arizonae*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella thypi* e *Shigella flexneri* e contra *Candida albicans* e *Plasmodium falciparum*.

Keyword: Plants, Amazon, Resistance, Antimicrobial, *Candida albicans*, *Plasmodium falciparum*, Gram-positive, Gram-negative

LISTA DE TABELAS E QUADROS

- Tabela 1- Cronologia da descoberta de fármacos protótipos de categorias Terapêuticas, a partir de plantas.....47
- Tabela 2- Distribuição dos extratos, frações e compostos estudados, de acordo com a famílias e espécies de plantas dos quais foram obtidos56
- Tabela 3- Descrições dos extratos em diferentes solventes de *Annona muricata* L., *Averrhoa carambola* L., *Astrocaryum aculeatum* B.K., *Caryocar villosum*, *Dioscorea alata* L., *Euterpe precatória*, *Euterpe oleracea*, *Inga edulis* Mart., *Mauritia flexuosa* L., *Paullinia cupana*, *Platonia insignis*, *Pouteria caimito*, *Rollinia mucosa*, *Protium klugii*, *Theobroma grandiflorum*, *Theobroma subincanum*.....61
- Tabela 4- Descrições dos extratos, frações e isolado em diferente solvente de *Aniba ferrea*, *Aniba guianensis*, *Aniba panurensis*, *Aniba parviflora*, *Licaria cannella angustata*, *Licaria martiniana*, *Ocotea leucoxyllum*.....65
- Tabela 5- Descrições das treze (13) cepas de bactérias Gram-positivas selecionadas para avaliação da atividade antibacteriana.....66
- Tabela 6- Descrições das vinte e quatro (24) cepas de bactérias Gram-negativas selecionadas para avaliação da atividade antibacteriana.....68
- Tabela 7- Critério de avaliação da atividade antimicrobiana, pelo método de difusão em ágar80
- Tabela 8- Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana dos extratos brutos de *Caryocar villosum*. Concentração inicial de (5 mg/mL), resultado do alo de inibição milímetro (mm): Droga padrão de bactéria: Imipenem/Cilastatina sódica (TIENAM), droga padrão de *Candida albicans*: Fluconazol (FLU).....81
- Tabela 9- Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana dos extratos brutos de *Euterpe Precatória*, *Garcinia madruno*, *Platonia insignis*, *Inga edulis*, *Protium klugii*. Concentração inicial de (5 mg/mL), resultado do alo de inibição milímetro (mm): Droga padrão de bactéria: Imipenem/Cilastatina sódica (TIENAM), droga padrão de *Candida albicans*: Fluconazol (FLU).....84
- Tabela 10- Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana dos extratos, frações e isolados de *Aniba Panurensis*, *Aniba ferrea*, *Aniba parviflora*, *Ocotea leucoxyllon*. Concentração inicial de (5 mg/mL), resultado do alo de inibição milímetro (mm): Droga padrão de bactéria: Imipenem/Cilastatina sódica (TIENAM), droga padrão de *Candida albicans*: Fluconazol (FLU).....88
- Tabela 11- Critérios de avaliações das atividades antimicrobianas pela técnica de poços89
- Tabela 12- Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos etanólico (EtOH) e hidroalcolico (EtOH: 70%) de *Caryocar villosum*. Concentração inicial de (1000

mg/mL): Droga padrão de bactéria: Imipenem/Cilastatina sódica (TIENAM), droga padrão de *Candida albicans*: Fluconazol (FLU).....90

Tabela 13- Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos de *Euterpe precatória*, *Ingá edulis*, *Garcinia madruno*, *Platonia insignis* e *Protium klugii*, concentração inicial de (1000 mg/mL). Droga padrão de bactéria: Imipenem/Cilastatina sódica (TIENAM), droga padrão de *Candida albicans*: Fluconazol (FLU).....92

Tabela 14- Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos dos extratos, frações e isolados de *Aniba panurensis*, *Aniba ferrea*, *Aniba parviflora*, *Ocotea leucoxydon*. Concentração inicial de (1000 mg/mL). Droga padrão de bactéria: Imipenem/Cilastatina sódica (TIENAM), droga padrão de *Candida albicans*: Fluconazol (FLU).....95

Tabela 15- Quantificação das unidades formadoras de colônias das frações das folhas de *Aniba panurensis* frente a *Staphylococcus aureus* (87); *Staphylococcus simulans* (94); *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (97); Apenas com a dose inicial (fração 1x); Doses subsequentes (fração +); Incontáveis (IN); Controles da droga-Imipenem/Cilastatina sódica–TIENAM (C+).....107

Tabela 16- Quantificação das unidades formadoras de colônias das frações dos galhos de *Aniba panurensis* frente a *Staphylococcus aureus* (87); *Staphylococcus simulans* (94); *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (97); Apenas com a dose inicial (fração 1x); Doses subsequentes (fração +); Incontáveis (IN); Controles da droga-Imipenem/Cilastatina sódica –TIENAM (C+).....110

Tabela 17- Quantificação das unidades formadoras de colônias das frações em diclorometano *Aniba ferrea* e *Ocotea leucoxydon*; frente a *Staphylococcus aureus* (87); *Staphylococcus simulans* (94); *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (97); Apenas com a dose inicial (fração 1x); Doses subsequentes (fração +); Incontáveis (IN); Controles da droga-Imipenem/Cilastatina sódica –TIENAM (C+).....112

Tabela 18- Sumário dos extratos e frações com atividade antimicrobiana: *E. coli* (EC); *Y. enterocolitica* (YE), *S. arizonae* (SA); *S. choleraesuis* (SC); *S. typhi* (ST); *S. flexnerie* (SF); *S. desenteriae* (SD); *A. baumannii* (AB); *B. liquiniformes* (BL); *B. subtilis* (BS); *B. subtilis* (BS); *S. agalactiae* (AS); *S. parasanguinis* (SP); *S. pyogenis* (SPY); *S. simulans* (SS); *S. aureus* (SA); *S. aureus* resistente a metilicina (MRSA) - fungo: *C. Albicans* (CA) – *Plasmodium falciparum* (PF).....119

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Organograma do Estudo da Atividade Antibacteriana, antifúngico e Antimalárico.....	55
Figura 2- Organograma das amostras biotivas.....	57
Figura 3 - Inibição de <i>Staphylococcus aureus</i> utilizando fração das folhas em diclorometano (DCM) de <i>Aniba panurensis</i>	97
Figura 4 - Inibição de <i>Staphylococcus aureus</i> utilizando a fração das folhas em Acetato etila (AcOEt) de <i>Aniba panurensis</i>	97
Figura 5 - Inibição de <i>Staphylococcus simulans</i> utilizando a fração das folhas em diclorometano (DCM) de <i>Aniba panurensis</i>	98
Figura 6 - Inibição de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a metilina (MRSA), utilizando a fração das folhas em diclorometano (DCM) de <i>Aniba panurensis</i>	99
Figura 7 - Inibição de <i>Staphylococcus aureus</i> utilizando a fração dos galhos em diclorometano (DCM) de <i>Aniba panurensis</i>	100
Figura 8 - Inibição de <i>Staphylococcus aureus</i> utilizando a fração de galhos em acetato de etila (AcOEt) de <i>Aniba panurensis</i>	100
Figura 9 - Inibição de <i>Staphylococcus simulans</i> utilizando a fração dos galhos em diclorometano (DCM) de <i>Aniba panurensis</i>	101
Figura 10 - Inibição de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a metilina utilizando a fração dos galhos em diclorometano (DCM) de <i>Aniba panurensis</i>	102
Figura 11 - Inibição de <i>Staphylococcus aureus</i> utilizando a fração de galhos em diclorometano (DCM) de <i>Aniba ferrea</i>	103
Figura 12 - Inibição de <i>simulans</i> utilizando a fração de galhos em diclorometano (DCM) de <i>Ocotea leucoxyllum</i>	103
Figura 13 - Inibição antimálicos dos extratos de <i>Theobroma grandiflorum</i> , <i>Euterpe precatória</i> , <i>Garcinia madruno</i> e <i>Platonia insignis</i>	114
Figura 14 - Inibições dos extratos brutos e frações e isolados de <i>Aniba panurensis</i> , <i>Aniba ferrea</i> , <i>Aniba parviflora</i> , <i>Aniba guianensis</i> , <i>Licaria martiniana</i> , <i>Licaria cannella angustata</i> , <i>Ocotea leucoxyllum</i> frente a linhagem de célula normal MRC5 (fibroblastos de pulmão humano).....	116
Figura 15 - Inibição dos extratos brutos de <i>Caryocar villosum</i> , <i>Euterpe precatória</i> , <i>Euterpe oleracea</i> , <i>Inga edulis</i> , <i>Garcinia madruno</i> , <i>Platonia insignis</i> , <i>Theobroma grandiflorum</i> , frente a linhagem de célula normal MRC5 (fibroblastos de pulmão humano).....	117

Figura 16 - Inibição dos extratos brutos de *Protium Klugii* frente a linhagem de célula normal MRC5 (fibroblastos de pulmão humano).....118

LISTA DE SIGLAS

AcOEt- Acetato de etila
AIDS- Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
AMH- Agar Müller Hinton
ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AS- *Staphylococcus aureus*
ATCC- American Type Culture Collection
BHI- Brain Heart Infusion Broth
CBM- Concentração Bacteriostática Mínima
CDC- Centro de controle de doenças
CDR- *Candida* resistência à droga
CI50- Concentração inibitória a 50%
CIM- Concentração Mínima Inibitória
CLSI- National Committee for Clinical Laboratory Standards
COE- Candidíase oroesofágica
CTT-Trifenil tetrazólio
CVV - Candidíase vulvovaginal
DAEC- *Escherichia coli* aderência
DCM- Diclorometano
DMSO- Dimetilsulfóxido
DO- Densimetria Óptica
EAEC- *Escherichia coli* enteroagregativa
ECV- Valores de cortes epidemiológicos
EHEC- *Escherichia coli* enterohemorrágica
EIEC- *Escherichia coli* enteroinvasora
EPEC- *Escherichia coli* enteropatogênica
ESBL- Beta-lactamases de espectro ampliado
ESBLs- Enzimas produtoras de β -lactamase de espectro ampliado
ETEC- *Escherichia coli* enterotoxigênica
EtOEt- Éter etílico
EtOH- Etanólico
EtOH:70%)- Hidroalcólico
EUA- Estados Unidos
FIOCRUZ- Fundação Instituto Oswaldo Cruz
FLU- Fluconazol
GFC- Garcinielliptona
HEX- Hexano
HIV- Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
IDSA- Infectious Diseases Society of America
ILMD- Instituto Leônidas e Maria Deane
IRAS- Infecções relacionadas à saúde
ISS- Infecções no serviço de saúde
LPS- Lipopolissacarídeo
MBL- Metallo- β -lactamase
MDR- Multirresistentes a múltiplas drogas
MeOH- Metanol
MRC5- Célula fibroblasto humano
MRSA- *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

MSSA- *Staphylococcus aureus* sensível a metilina
μL- Microlitro
NDM- New Delhi Metallobetalactamase
OC- Candidíase oral
OMS- Organização Mundial da Saúde
PBP- Penicillin Binding Proteins
Q-BiomA- Química de Biomoléculas da Amazônia
RDC- Resolução da Diretoria Colegiada
SAB- Ágar Sabouraud
TIENAM- Imipenem/Cilastatina sódica
UTIN- Infecção em unidades de terapia intensiva neonatal
UTIP- Infecção em unidades de terapia intensiva pediatria
μg- Microgramas
μg/ mL- Micrograma por mililitro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
2. OBJETIVOS	22
2.1. Objetivo geral	22
2.2. Objetivos específicos	22
3. REVISÃO DA LITERATURA	23
3.1. Infecções bacterianas: agentes etiológicos e sua importância para Saúde Pública	23
3.1.1. Antimicrobianos	28
3.1.2. Resistência aos antimicrobianos.....	28
3.1.3. Resistência bacteriana	29
3.2. Fungos	33
3.2.1. Agente etiológico e a sua importância para saúde pública no mundo	33
3.2.2. Resistência aos antifúngicos	36
3.3. Malária.....	38
3.3.1. O agente etiológico e a sua importância para saúde pública	38
3.3.2. Quimioterapia e Resistência de <i>Plasmodium falciparum</i> aos medicamentos Antimaláricos	41
3.3. Plantas medicinais.....	43
3.3.1. <i>Annona muricata</i> L. (Graviola)	48
3.3.2. <i>Averrhoa carambola</i> L. (Carambola).....	48
3.3.3. <i>Bertholletia excelsa</i> H.B.K. (Castanha do Brasil)	49
3.3.4. <i>Caryocar villosum</i> Pers. (PIQUIÁ).....	49
3.3.5. <i>Dioscorea alata</i> L. (Cará roxo)	50
3.3.6. <i>Euterpe oleracea</i> e <i>E. precatória</i> (AÇAÍ).....	50
3.3.7. <i>Inga edulis</i> Mart. (Ingá).....	51
3.3.8. Lauraceae Juss.	51
3.3.9. <i>Mauritia flexuosa</i> L. (Buriti)	52
3.3.10. <i>Paullinia cupana</i> Kunth (Guaraná)	52
3.3.11. <i>Platonia insignis</i> (Bacuri) e <i>Garcinia madruno</i> (Bacurizinho).....	53
3.3.12. <i>Pouteria caimito</i> (Abiu).....	53
3.3.13. <i>Protium klugii</i>	53
3.3.14. <i>Rollinia mucosa</i> (Biriba)	54
3.3.15. <i>Theobroma grandiflorum</i> Schum. (Cupuaçu) e <i>Theobroma subincanum</i> (Cupuí)	54
4. MATERIAL E MÉTODOS	55
4.1. Obtenção dos Extratos, frações e composto isolado	57
4.1.2. Descrição dos extratos	58
4.2. Triagem de extratos, frações e composto isolado com atividade antimicrobiana	65
4.2.2. Micro-organismos	65
4.2.3. Preparo das amostras analisadas.....	67
4.2.4. Preparação das placas	67
4.2.5. Padronização e Preparação do inóculo	67
4.3. Atividade antibacteriana (ab) e atividade antifúngica (af) por teste de difusão em ágar pela técnica de difusão em ágar.....	68
4.4. Método de diluição em microplaca com determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e determinação da concentração fungicida mínima (CFM)	69
5.5. Curva de morte	71

5.2.1	Testes de diluição em caldo	71
5.2.2	Teste de Dosagem 6/6 Horas com Quantificação de Unidades Formadoras de Colônias (UFC)	72
6.6.	Teste antimaláricos	74
6.2.1	Cepa de <i>Plasmodium falciparum</i>	74
6.2.2	Preparo das soluções dos extratos analisados	74
6.2.3	Cultura de <i>Plasmodium falciparum</i> e preparação do meio de cultura	74
6.2.4	Avaliação da Atividade Antimalárica (<i>in vitro</i>)	74
6.2.5	Verificação da inibição de crescimento por citometria de fluxo	76
7.7	Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i>	77
8.8	Análises estatísticas.....	78
5.	RESULTADOS	79
5.1	Atividade antibacteriana e antifúngica pelo método de difusão em ágar	79
5.2	Concentração inibitória mínima (CIMS)	89
5.3	Curva de morte	96
5.3.1	Testes de diluição em caldo	96
5.3.2	Teste de dosagem 6/6 com a Quantificação de Unidades Formadora de Colônias (UFC)	104
5.4	Avaliações preliminares da atividade antimalárica (<i>IN VITRO</i>).....	113
5.5	Ensaio e citotoxicidade <i>IN VITRO</i>	115
5.6	Resultado geral	119
6.	DISCUSSÃO	120
7.	CONCLUSÕES	127
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	129

1. INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas representam uma das maiores causas de morbidade e mortalidade, acometendo principalmente crianças, idosos e paciente imunocomprometidos, sendo as principais causas de mortes prematuras no mundo, atingindo cerca de 7,6 milhões de óbitos por ano (LIU et al, 2012; WALKER et al, 2013; DOARE et al, 2015).

O grande aumento da resistência dos agentes etiológicos destas doenças aos antimicrobianos convencionais disponíveis vêm se tornando um problema de saúde global gerando um impacto negativo sobre o tratamento destas infecções (VISWANATHAN et al, 2009; WALKER et al, 2013; LIU, et al, 2012; WORLD, 2014a). Esse aumento é um fator importante na ocorrência de alto quantitativo de mortes, além de que, este fator também dificulta a cura e eleva os gastos com a assistência à saúde (LIU, et al, 2012; WORLD, 2014a). Diversos fatores podem estar contribuindo de forma direta e indireta para o aumento da resistência, tais como fatores socioeconômicos, sociais e políticos, além do acesso inadequado aos medicamentos. Por outro lado, o uso indiscriminado de antibióticos na medicina humana e veterinária, gera uma grande pressão seletiva sobre os micro-organismos, o que leva a um considerável aumento da resistência destes aos antimicrobianos atualmente disponíveis, trazendo novos problemas à saúde pública e gerando uma necessidade urgente de novas abordagens terapêuticas (BARROS et al, 2012; FAUCI & MARSTON, 2014). Entre os impactos e as consequências do uso indiscriminado dos antibióticos destacam-se: seleção de patógenos multirresistentes (MDR) com implicações ecológicas e epidemiológicas, risco de infecções generalizadas, maior incidência de efeitos colaterais e o aumento de óbitos resultantes daquelas infecções (OLIVEIRA & BETTCHER, 2010; BARROS et al, 2012; MITA & TANABE, 2012; DOWNIE et al, 2013; SILVA et al, 2013; BIAMONTE et al, 2013; PADOVEZE & FORTALEZA, 2014)

A descoberta da penicilina, codeína, digoxina, artemisinina e do alcalóide quinina tem estimulado o interesse nas buscas de novos antimicrobianos com origem biológica (CALIXTO & YUNES, 2001; CARNEIRO, et al, 2008; RIBEIRO, 2008; CURSINO et al 2011; SARAIVA et al, 2013; RABELO et al, 2014). Estudos indicam que as plantas produzem substâncias inibitórias específicas para certos micro-organismos, com propriedades análogas as dos antimicrobianos convencionais

(NETO et al, 2002; CURSINO et al, 2011; TEKWU et al, 2012). Algumas substâncias originárias de plantas com propriedades antibacterianas, muitas vezes mostram esta atividade apenas quando presentes nos seus extratos. Porém, muitas outras já foram isoladas e identificadas por métodos fitoquímicos e sua atividade foi confirmada por ensaios microbiológicos (GUIMARÃES et a, 2010; RABELO et al, 2014). Dentro desse contexto, os estudos com plantas representam prioridade na Amazônia, pela variedade e riqueza de sua flora, e nos dias atuais a Amazônia vem se tornando um cenário fundamental devido a sua ampla biodiversidade, principalmente tratando-se de micro-organismos e vegetais, e se apresenta como uma fonte alternativa no combate a inúmeras doenças. Porém, cientificamente existem poucos estudos que exploram essa biodiversidade, e estas pesquisas se tornam em menor número quando os extratos destas plantas são submetidos ao fracionamento e posteriormente são submetidas a um rastreamento para determinar suas atividades biológicas (GUIMARÃES et a, 2010). E apesar da ampla disponibilidade de antibióticos clinicamente úteis e análogos semi-sintéticos, a pesquisa contínua de novos agentes antimicrobianos permanece indispensável, uma vez que a combinação da versatilidade genética dos micro-organismos e o uso indiscriminado dos antibióticos têm levado ao aumento da resistência clínica de microrganismos previamente sensíveis e a emergência de infecções anteriormente incomuns (NEWMAN et al, 2000; GUIMARÃES et a, 2010; SÁ et al, 2014).

As pesquisas farmacêuticas, recentemente se intensificaram em estudos dos extratos das espécies *Annona muricata* L. (Graviola), *Averrhoa carambola* L. (Carambola), *Astrocaryum aculeatum* (Tucumã), *Bertholletia excelsa* H.B.K. (Castanha do Brasil), *Caryocar villosum* (Piquiá), *Dioscorea alata* L. (Cará roxo), *Euterpe Precatória* (Açaí), *Euterpe oleracea* (Açaí), *Garcinia madruno* (Bacurizinho), *Inga edulis* Mart. (Ingá), *Mauritia flexuosa* L. (Buriti), *Paullinia cupana* (Guaraná), *Platonia insignis* (Bacuri), *Protium klugii*, *Pouteria caimito* (Abiu), *Rollinia mucosa* (Biriba), *Theobroma grandiflorum* (cupuaçu), *Theobroma subincanum* (cupui) e as espécies da família Lauracea (*Aniba ferrea*, *Aniba guianensis*, *Aniba panurensis*, *Aniba parviflora*, *Licaria cannella angustata*, *Licaria martiniana* e *Ocotea leucoxyllum*), e para diversas plantas já foram demonstradas atividades antibacteriana, antifúngica e antiplasmódica. Mas diversas espécies estudadas, relatos ainda são raros, principalmente envolvendo atividades antimaláricas. E diante dos problemas

encontrados há uma necessidade de novas buscas de agentes antimicrobianos, antifúngicos e antimaláricos de origem vegetal. E levando em consideração as elevadas taxas de resistências antimicrobianas frente aos medicamentos disponíveis, e a escassez de estudos envolvendo a triagem de plantas na região amazônica. Desta forma tal pesquisa poderá contribuir no desenvolvimento no campo da saúde em nível mundial, visto que estas plantas são ricas em constituintes químicos e biológicos potencialmente ativo, que podem ser uma fonte de alternativas para o tratamento quimioterápicos das infecções microbianas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar as atividades antimicrobianas de extratos, frações e isolado composto obtidos de plantas Amazônicas frente a *Candida albicans*, *Plasmodium falciparum* (3D7) e bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

2.2 Objetivos específicos

- ✚ Avaliar qualitativamente a ação antibacteriana *in vitro* dos extratos vegetais, frações e compostos purificados frente às bactérias Gram-negativas e Gram-positivas.
- ✚ Determinar a Concentração Mínima Inibitória (CIM) dos extratos brutos, frações e composto isolados bioativos sobre as cepas susceptíveis.
- ✚ Verificar a natureza da atividade antimicrobiana quanto ao efeito bactericida ou bacteriostático das amostras que apresentaram atividades contra as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.
- ✚ Avaliar atividade *in vitro* dos extratos vegetais frente *Candida albicans* e Determinar a Concentração Mínima Inibitória (CIM) dos extratos vegetais.
- ✚ Avaliar atividade dos extratos vegetais sobre crescimento de *Plasmodium falciparum*.
- ✚ Determinar a citotoxicidade dos extratos brutos, frações e compostos bioativos em célula fibroblasto humano.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Infecções bacterianas: agentes etiológicos e sua importância para Saúde Pública

As bactérias são micro-organismos unicelulares, e como material genético não é envolto por uma membrana nuclear, as bactérias são chamadas de procariotos. As bactérias são classificadas em dois principais grupos: Gram-positivos e Gram-negativos esta classificação baseia-se na coloração da parede celular pelo método de coloração de Gram (KONEMAM et al, 1989; TORTORA, 2012; MURRAY et al, 2014). Nas bactérias Gram-positivas, a parede celular é constituída por muitas camadas de peptídeoglicano, formando uma estrutura espessa e rígida. Em contraste, a parede celular de gram-negativas contém somente uma camada fina de peptídeoglicana. Dentre os outros componentes da parede celular das Gram-positivas, tais como, ácidos teicoicos e lipoteicoicos, proteínas e polissacarídeos (LIVERMORE, 2012; TORTORA, 2012; MURRAY et al, 2014). As bactérias Gram-negativas não contêm ácidos teicoicos, mas apresentam uma parede celular formada por um espaço periplasmático, uma camada de peptídeoglicano de 2 nm de espessura e uma membrana externa. E esta composição é devido a presença da membrana externa que consiste de lipopolissacarídeos (LPS, que atuam como antígenos bacterianos, é uma característica marcante das células bacterianas das Gram-negativas (TORTORA, 2012; MURRAY et al, 2014). E dentre as espécies do grupo das bactérias Gram-negativas que são mais comumente associada as doenças em humanos, encontram-se a família da Pseudomonadaceae (*Pseudomonas*), Moraxellaceae (*Acinetobacter baumannii*) e a família das *Enterobacteriaceae*, que é composto pelos membros dos gêneros *Citrobacter*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Yersinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella* e *Serratia*. Essas espécies podem ser encontradas em diversos tipos de ambientes, estando presentes no solo, água, alimentos e colonizando homens e animais. Essas espécies que tem emergido nas últimas décadas como os mais importantes patógenos responsáveis por um número significativo de infecções notáveis no âmbito hospitalar e nas comunidades. E podendo causar diversos tipos de doenças, tais como: bacteremia, dermatite, onicomicose, artrite, osteomielite, endoftalmite, miocardite, meningite, peritonite, miosite, pneumonite, infecção no trato urinário, infecção vascular, entre outras

(HIRSCH & TAM, 2010; NEUNER et al, 2011; BERTRAND et al, 2011; GIRI & KINDO, 2012; IGUCHI et al, 2014; OCHIENG et al, 2014; YAPAR, 2014).

Do grupo das bactérias Gram-positivas, encontram-se o gênero do *Bacillus*, *Enterococcus*, *Listeria*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*. Essas espécies são facilmente encontradas no solo, água, vegetação, animais e seres humanos. Mas algumas espécies são comumente encontradas em áreas específicas como, no caso de *S. aureus* que coloniza as narinas, mas também pode ser encontrada na microbiota normal da pele e mucosas. Essas espécies são responsáveis por um amplo espectro de doenças sistêmicas, incluindo infecções na pele, tecido mole, ossos e trato urinário e infecções oportunistas (WUNDERINK et al, 2012; SHANE et al, 2012; PEREIRA et al, 2014). E muitos desses micro-organismos são considerados oportunistas e sendo responsáveis por inúmeras infecções no âmbito hospitalar (MARRA et al, 2011; LEE et al, 2012; DOWNIE et al, 2013; RUBIO et al, 2013; VLIEGHE et al, 2013).

O centro de controle de doenças (CDC) define infecções no serviço de saúde (ISS) como afecções causadas por variedades comuns e incomuns de bactérias, fungos, e vírus durante os cuidados hospitalares (BARROS et al, 2012). Essas infecções podem ser adquiridas após 72 horas de internação ou até 30 dias de hospitalização (SOUSA et al, 2009; SILVA et al, 2013; PADOVEZE & FORTALEZA, 2014). As infecções relacionadas à saúde (IRAS) determinadas por bactérias multirresistentes representam um importante problema de saúde pública em expansão, exigindo uma ação conjunta nas práticas de prevenção e controle das mesmas (SILVA et al, 2013; PADOVEZE & FORTALEZA, 2014). Estas infecções ocorrem tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento, com taxas de morbidade e mortalidade elevadas, e com isto, provocam um aumento no custo dos antimicrobianos para os tratamentos (GISKE et al, 2008; SILVA et al, 2013; WALKER et al, 2013; PADOVEZE & FORTALEZA, 2014). O problema é mais expressivo nos hospitais de países em desenvolvimento, pela maior escassez de recursos financeiros humanos, tais como, laboratórios de microbiologia habilitados e práticas de prevenção e controle de infecções hospitalares (WALKER et al, 2013; DOWNIE et al, 2013; SILVA et al, 2013; ZEA-VERA & OCHOA, 2015). As infecções hospitalares acometem mais de 15% dos pacientes internados (OLIVEIRA & BETTCHER, 2010; BARROS et al, 2012), o que provoca um aumento de até três vezes o custo com tratamento e diagnóstico de pacientes infectados (BARROS et al, 2012) e ainda contribui com a

taxa de mortalidade que varia entre 10 a 80% (LIMA et al, 2007), acometendo principalmente neonatos, crianças e idosos e pacientes com sistema imunológico imunocomprometido (LIMA et al, 2007, DOWNIE et al, 2013; WALKER et al, 2013; BARROS et al, 2012; YOKOE et al, 2014).

Umas das maiores preocupações nos dias atuais, são as infecções hospitalares adquiridas por bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, e dentre os patógenos mais comuns se encontram os da família Enterobacteriaceae (tais como *Klebsiella pneumoniae* e *E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e *Staphylococcus aureus* (MARRA et al, 2011; DOWNIE et al, 2013; RUBIO et al, 2013; GUO et al, 2015; WORLD, 2014a). Vários estudos recentes têm relato a emergência de patógenos Gram-positivos e Gram-negativos no ambiente nosocomial (MARRA et al, 2011; DOWNIE et al, 2013; RUBIO et al, 2013; VLIEGHE et al, 2013; GUO et al, 2015; WORLD, 2014a). Os surtos de doenças infecciosas causadas por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas têm sido relatados mundialmente (MARRA et al, 2011; VLIEGHE et al, 2013; RUBIO et al, 2013).

Uns dos agentes oportunistas que podem causar infecções nosocomiais graves é o *A. baumannii*, que apesar de apresentar baixa virulência é um patógeno multirresistente (MDR) emergente no âmbito hospitalar (LEE et al, 2012; KEMPF & ROLAIN 2012; HOWARD et al, 2012). O interesse por esse patógeno surgiu cerca de uma década atrás por causa de seus fenótipos MDR naturais, e sua capacidade de aquisição de novos mecanismos de resistência e da existência de surtos de infecções nosocomiais frequentes (KEMPF & ROLAIN 2012; ZARRILLI et al, 2013; RICHARDS et al, 2015). As taxas de mortalidade das doenças relacionadas com bacteremia variam de 29,8 a 60%, chegando, no entanto, a taxas superiores a 70% quando analisados micro-organismos resistentes ao antimicrobiano imipenem (CHUANG et al, 2011; LEE et al, 2012). Nos Estados Unidos estimam-se 12.000 infecções e 500 mortes por *Acinetobacter* associadas aos cuidados de saúde recentemente (CDC, 2013).

A *Salmonella* entérica é um dos principais patógenos causadores de doenças transmitidas por alimentos no mundo, tais como, carne de porco, carne bovina, ovos derivados (HUR et al, 2012; MUGHINI-GRAS et al, 2014), sendo as crianças menores de 5 anos os indivíduos mais acometidos. Ainda, diversos relatos recentes de salmonelose tem sido identificado no ambiente hospitalar (VLIEGHE et al, 2012;

HARKER et al, 2014; ROCHA et al, 2014). Nos Estados Unidos ocorrem aproximadamente 19.336 hospitalizações e cerca de 378 mortes por ano, e os sorovares mais prevalentes são o Typhimurium e o Enteritidis (CDC, 2007; SCALLAN et al, 2011). Na Austrália em 2010 foram notificados 11.992 casos de salmonelose, representando 53,7% de casos para cada 100.000 habitantes (MCKERCHER & OZFOODNET, 2012). Na Inglaterra foram notificados 800 surtos entre os anos de 2000 a 2011, com maior prevalência de *Salmonella entérica*, sendo registrados para esta espécie 391 surtos para cada 10.000 habitantes (HARKER et al, 2014).

A shigelose, doença causada por bactérias do gênero *Shigella*, tem sido uma das causas mais comuns, principalmente em países em desenvolvimento, sendo responsável por uma alta taxa de morbidade e mortalidade, acometendo principalmente crianças menores de 5 anos, idosos e pacientes hospitalizados (SOUSA et al, 2013). A distribuição de *Shigella* variam entre os países: *S. flexneri* é predominante nos países em desenvolvimento, enquanto que *S. sonnei* é mais relatada em países desenvolvidos (NUNES et al, 2012; BASTOS & LOUREIRO, 2011; SOUSA et al, 2013; CRUZ et al, 2014). O número anual de episódios de shigelose em todo o mundo foi estimado em 164,7 milhões, dos quais 163,2 milhões ocorreram em países em desenvolvimento, resultando em 1,1 milhões de mortes (KOTLOFF et al, 1999). Mas apesar das melhorias econômicas e de saúde pública nos últimos anos, os surtos de shigelose ainda são relatados regularmente em todo mundo (BARDHAN et al, 2010; BASTOS & LOUREIRO, 2012; SOUSA et al, 2013; CULQUI et al, 2014; CRUZ et al, 2014; PELEG et al, 2014; ZHANG, et al, 2014). Na Ásia Aproximadamente 125 milhões de casos de infecção por *Shigella* ocorrem anualmente, dos quais 14.000 mil são fatais (BARDHAN et al, 2010). Nos estados Unidos é a terceira infecção entérica mais comum, resultando em 495. 000 doenças anualmente. Na Coreia mais de 500 casos de shigelose tem sido relatado desde 2004, até os dias atuais (KIM et al, 2013). No Brasil também tem sido relatado casos de shigeloses e as taxas variam de 11, 8% a 88,2% (BASTOS & LOUREIRO, 2012; SOUSA et al, 2013; CRUZ et al, 2014).

Staphylococcus aureus (AS) são importantes patógenos responsáveis por uma taxa elevada de morbidade e mortalidade em ambiente nosocomial, principalmente as cepas resistentes à metilicina (MRSA) sendo responsáveis por infecções em unidades de terapia intensiva neonatal (UTIN) e pediátrica (UTIP) (LEITE et al, 2011; SHANE et

al, 2012; SILVA et al, 2013; DOLAPO et al, 2014; PEREIRA et al, 2014; MARTINS et al, 2014a; WORLD, 2014a). Em Nova Iorque, foram detectadas 123 infecções na corrente sanguínea de neonatos, causadas por *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina (MSSA) e 49 infecções causadas por MRSA e taxa de infecção por ambos isolados, variou de 15-30 infecções por 1.000 admissões (CAREY et al, 2010).

A cólera é uma enfermidade causada pela bactéria *Vibrio cholerae* que continua sendo uma importante causa de infecções humanas, e seus surtos são frequentemente observadas após a ocorrência de desastres naturais (HENDRIKSEN et al, 2011; LIVERMORE, 2012). Em 2013, 47 países notificaram um total de 129.064 casos de cólera incluindo 2.102 mortes, apresentando taxa de letalidade de (1,63%). A cólera representa uma taxa estimada de 1,4-4/ 300.000 casos, e 28. 000 a 142. 000 mortes por ano em todo o mundo (WORLD, 2014b). Os casos foram notificados em todas as regiões do mundo, incluindo 22 países na África, 14 países na Ásia, dois na Europa, 8 nas Américas e um na Oceania. Dos 26 países que notificaram mortes de cólera, 17 eram do continente africano respondendo por 1.366 mortes (2,43%), enquanto Américas relataram 635 mortes (1,04%) (WORLD, 2014b).

3.1.1. Antimicrobianos

Os antimicrobianos são agentes terapêuticos utilizados no tratamento de micro-organismos patogênicos, e além de serem de suma importância para a eliminação ou diminuição das taxas de morbidade e mortalidade (COWAN, 1999; GUIMARÃES et al, 2010). E os antimicrobianos podem ser classificados como antibacterianos, antifúngicos, antivirais e antiparasitários. Os antimicrobianos são drogas capazes de inibirem o crescimento de micro-organismos indicados para o tratamento de infecções, e podem ser microbicidas, quando atuam provocando diretamente a morte dos micro-organismos, ou microbiostáticos, quando atuam impedindo a sua replicação (DRAWZ & BONOMO, 2010; GUIMARÃES et al, 2010).

Os antimicrobianos são classificados de diversas maneiras, podem ser classificados segundo a sua origem, efeitos antimicrobianos, espectro de atividade e mecanismo de ação. Quanto a sua origem, os antimicrobianos podem ser naturais, sintéticos ou semi-sintéticos. E considerando os efeitos dos antimicrobianos têm aqueles que atuam como bactericidas ou bacteriostáticas. Segundo o seu espectro de ação e os antimicrobianos são divididos em três categorias: amplo espectro, espectro intermediário e espectro reduzido. E por últimos, os antimicrobianos que diferem de acordo com mecanismo de ação, e sendo assim, eles agem inibindo a síntese da parede celular, alterando a permeabilidade celular, inibindo a síntese protéica ou inibindo a síntese de DNA ou RNA (SILVA, 1999; GUIMARÃES et al, 2010).

3.1.2. Resistência aos antimicrobianos

Segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO 2014a; 2015), o termo “resistência aos antimicrobianos” é usado para determinar a resistência de um micro-organismo a um determinado fármaco que foi originalmente eficaz no tratamento de infecções causados por patógenos. A resistência a esses medicamentos, causados pelos agentes infecciosos pode ser caracterizada como intrínseca ou adquirida (RICE & BONOMO, 2005; SANGUINETTI & POSTERARO, 2015). Na resistência intrínseca, o desenvolvimento da resistência aos antimicrobianos é um fenômeno natural que ocorre quando os micro-organismos não apresentam alvo apropriado ou possuem barreiras naturais que previnem o agente de alcançar o alvo (RICE & BONOMO, 2005; WORLD, 2014a; SANGUINETTI & POSTERARO, 2015). A resistência adquirida reflete uma verdadeira modificação na composição genética dos patógenos, o que faz

com que um antimicrobiano eficaz deixe de ser ativo contra determinado micro-organismo (KAYE et al, 2000; RICE & BONOMO, 2005; WORLD, 2014a). A resistência intrínseca ou adquirida aos antimicrobianos vem aumentando em todo o mundo, em particular, no ambiente hospitalar. E o uso indiscriminado de antimicrobianos tem facilitando o surgimento de bactérias, fungos e parasitas cada vez mais resistentes, reduzindo a eficácia dos medicamentos existentes no mercado farmacêutico (RICE & BONOMO, 2005; WORLD, 2014a; GUO, et al, 2015).

3.1.3 Resistência bacteriana

A resistência bacteriana é um grande problema de saúde pública desde meados de 1940 logo após a penicilina ser colocada no mercado. E na década de 60 devido à grande utilização indevida do antibiótico, cinquenta por cento (50%) das cepas de *Staphylococcus aureus* já apresentavam resistência a penicilina e foi observado a capacidade deste patógeno em produzir uma variedade de enzimas capazes de destruir a molécula da penicilina (WORLD, 2000). E nesse mesmo período novas antimicrobianos foram descobertos, e com a descoberta de novas drogas, incluindo a metilicina e vancomicina foram surgindo cada vez mais cepas multirresistente frente aos antimicrobianos recém descoberto. E ainda em 1960, a metilicina foi lançada no mercado como alternativa para o tratamento das infecções causadas pelas bactérias Gram-positivas, e nesse mesmo ano, houve relato das primeiras cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilicina (MRSA) (Duarte et al, 1994; TAVARES, 2000). E anos depois foram relatados cepas de *Staphylococcus* resistentes à vancomicina, e estas cepas multirresistente foram disseminadas nas enfermarias hospitalares WALSH, (2000). Estas ocorrências deram origem a um grave problema de saúde pública, com implicações econômicas, sociais e políticas, que são transnacionais, atravessando todas as fronteiras (FAUCI & MARSTON, 2014).

Nos Estados Unidos estima-se 140.000 infecções e 1.700 mortes associada a Enterobacteriaceae produtoras de β -lactamase de espectro ampliado ES β L (CDC, 2013). Segundo o CDC (2013) os pacientes com bacteremia causadas por bactérias produtoras de ES β L, tem cerca 57% chance de morrer do que aqueles com infecções causadas por uma estirpe não produtora de ES β L. E os genes de β -lactamase foram descritos em diversas espécies bacterianas, porém as enterobactérias são as principais responsáveis pela disseminação desses genes, principalmente isolados

nosocomiais de *K. pneumoniae* e *E. coli*. E essas enzimas se destacam pela capacidade de hidrolisar penicilinas, cefalosporinas de primeira, segunda e terceira geração e o aztreonam (CHEN et al, 2011; MURRAY et al, 2014). E os mecanismos fisiológicos pelos quais as bactérias tornam-se resistente aos antibióticos β -lactâmicos envolvem: a redução da afinidade pelos alvos da droga (Penicillin Binding Proteins-PBP); a alteração da permeabilidade da membrana externa; e a inativação ou destruição da droga pela hidrólise do anel β -lactâmico (SHLAES et al, 1997; MURRAY et al, 2014). E muitos desse gene responsável por esta resistência pode estar inserido em plasmídeos, que podem ser disseminados através da interconexão de populações bacterianas comensais, ambientais e patogênicas, contribuindo para a disseminação de bactérias multirresistentes (BUSH & JACOBY, 2010; CHEN et al, 2011; CEREDA et al, 2011; WORLD, 2014a; GUO et al, 2015; SAID, et al, 2015).

Nos Estados Unidos, pelo menos 2 milhões de pessoas por ano adquirem infecções graves causadas por bactérias, as quais são resistentes a um ou mais dos antibióticos usados na rotina de tratamento das IRAS e pelo menos 23.000 pessoas morrem a cada ano como consequência do uso indiscriminado de antibióticos, estimando-se um gasto global de aproximadamente 20 milhões por ano (CDC, 2013). Na União Europeia, pelo menos 2,5 milhões de hospitalizações ocorreram no ano de 2012, com aproximadamente 25.000 mortes, apresentando gasto estimado de 1,5 bilhoes (PUMART et al, 2012).

Os principais patógenos responsáveis pelo aumento de resistência aos antimicrobianos são bactérias Gram-negativas, especialmente *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Acinetobacter baumannii* (RUBIO et al, 2013; CDC, 2013; WORLD, 2014a). Uns dos maiores problemas nos dias atuais é propagação mundial de bacilos Gram-negativos produtores de carbapenemase e de vários outros novos genes relacionados à multirresistência que emergiram a partir dos β -lactamase, como metalo- β -lactamase (MBL). Os genes New Delhi Metallobetalactamase (NDM) são capazes de inativar todos os antimicrobianos β -lactâmicos, com exceção de aztreonam. Esses genes inicialmente eram relatados apenas em *K. pneumoniae* e *E. coli*, mas nos últimos anos surgiram vários relatos em outros Gram-negativos como *A. baumannii* (KUMARASAMY, et al, 2010; KARTHIKEYAN et al, 2010; NORDMANN et al, 2011; KAASE et al, 2011; RICHARDS et al, 2015). A alta incidência de NDM tem sido relatada em diversos países como Índia, África, Ásia, Austrália e outros na América e

Europa (KAASE et al, 2011). Outro problema mundial é o surgimento de estirpes resistentes à colistina, e esse aumento é impulsionado pelo uso crescente desse antimicrobianos para o tratamento de infecções causadas por bactérias MDR (KEMPF et al, 2012; CAI et al, 2012).

A expansão de *Acinetobacter baumannii* MDR é preocupante, devido a rápida propagação de novos genes, como metalo- β -lactamase (HOWARD et al, 2012; ZARRILLI et al, 2013; RICHARDS et al, 2015). A carbapenemase NDM-1 foi inicialmente identificada em *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* na Suécia, e a partir daí houveram diversos relatos recentes em diversos locais no mundo (KARTHIKEYAN et al, 2010; KAASE et al, 2011; CARVALHO et al, 2013). A resistência de *Acinetobacter* a colistina foi relatada pela primeira vez na República Checa em 1999 por (HEJNAR et al, 1999). Nos últimos anos têm sido relatadas taxas elevadas de resistência nos países da Ásia e Europa (ROLAIN et al, 2011; LÓPEZ-ROJAS et al, 2011; CAI et al, 2012).

Os altos níveis de resistência aos agentes antimicrobianos comumente utilizados na medicina clínica representam um grande desafio para o tratamento de pacientes com shigelloses (BASTOS et al, 2011; SHIFERAW et al, 2012; AHMED et al, 2013; CDC, 2013; SOUSA et al, 2013; PELEG et al, 2014; ZHANG, et al, 2014).

Diversos relatos de resistência de *E. coli* e *K. pneumoniae* no ambiente hospitalar devido à produção de ESBL têm sido descritos (WORLD, 2014a), sendo correlacionados especialmente a mutações por elementos genéticos, gerando resistência a medicamentos das classes das fluoroquinolonas, e os antibióticos de amplo espectro como penicilinas, ampicilina, amoxicilina e às cefalosporinas de terceira geração (PALTANSING et al, 2013; WORLD, 2014a). A resistência de *E. coli* às cefalosporinas tem sido relatada em 13 países da África, 14 países da América, 35 países da Europa, cinco países do sul da Ásia e 13 países ocidentais e a resistência a fluoroquinolonas foi relatada em 14 países da África, 16 países da América, 35 países da Europa, cinco países do sul da Ásia e 16 países ocidentais (WORLD, 2014a).

A resistência de *K. pneumoniae* a cefalosporinas tem sido relatada em 13 países da África, 17 países da América, 33 países da Europa, 4 países do sul da Ásia e 14 países ocidentais e a resistência a fluoroquinolonas foram relatados em 14 países da África, 16 países da América, 35 países da Europa, 5 países do sul da Ásia e 14

países do pacífico (WORLD, 2014a). Com relação a resistência frente aos carbapenêmicos, esta tem sido relatada em 4 países da África, 17 países da América, 31 países da Europa, 4 países do sul da Ásia e 9 países ocidentais (POIREL et al, 2010; POIREL et al, 2011; FEHLBERG et al, 2012; WORLD, 2014a; GUO, et al, 2015).

O aumento da prevalência de infecções hospitalares por *P. aeruginosa* MDR é preocupante, principalmente no ambiente hospitalar, pois inclui isolados com resistência aos antimicrobianos de amplo espectro como β -lactâmicos, aminoglicosídeos e fluoroquinolonas (WANG et al, 2010; TAM et al, 2010; POOLE, 2011; LIVERMORE, 2012). Esse agravamento compromete o tratamento adequado das infecções causadas por estes patógenos, pois os carbapenêmicos são os antibióticos de escolha para tratamento de infecções causada por *P. aeruginosa* (WANG et al, 2010; BREIDENSTEIN et al, 2011; POOLE, 2011). A resistência adquirida por este micro-organismo é multifatorial, devido a mutações cromossômicas e aquisições de genes de resistência, que ocorrem através de transferência horizontal (BREIDENSTEIN et al, 2011; POOLE, 2011) e com isto, *P. aeruginosa* pode se tornar ainda menos suscetíveis devido à aquisição de características herdadas (BREIDENSTEIN et al, 2011). Estudos demonstram que há uma disseminação clonal de cepas de *P. aeruginosa* MDR no mundo, e ainda não se sabe como os clones dessa bactéria tem se difundido (BREIDENSTEIN et al, 2011; POOLE, 2011; XIAO et al, 2011; CDC, 2013; LUNA et al, 2013).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) a resistência de *S. aureus* frente beta-lactâmicos tem sido relatado em 9 países da África, 15 países da América, 4 países do mediterrâneo, 36 países da Europa, 3 países do sul da Ásia e 16 países do pacífico (CAREY et al, 2010; MARRA et al, 2011; SHI et al, 2011; XIÃO et al, 2011; RUBIO et al, 2013; DABUL & CAMARGO, 2014; MARTINS et al, 2014a; WORLD, 2014a).

3.2. Fungos

3.2.1. Agente etiológico e a sua importância para saúde pública no mundo

Taxonomicamente, a espécie de *Candida albicans* pertence ao Reino Fungi, divisão Eumycota, subdivisão Deuteromycotina, classe Blastomycetes e Família Cryptococcaceae, gênero *Candida*. O gênero *Candida* compreende mais de 150 espécies, as quais apresentam células em forma brotamento, ou podem formar pseudo-hifas e/ou hifas verdadeiras e não tem reprodução sexual (BARNETT & PAYNE, 2000; YAPAR, 2014; ENE & BENNETT, 2014). Essa espécie é encontrada em diversos tipos de ambiente, estando presentes no solo, água e alimentos e colonizando homens e animais. Pode causar diversos tipos de doenças, tais como: dermatite, onicomicose, artrite, osteomielite, endoftalmite, miocardite, meningite, peritonite, miosite, pneumonite, infecção no trato urinário, infecção vascular, candidemia e entre outras (GIRI & KINDO, 2012; YAPAR, 2014). Essa espécie possui importante capacidade adaptativa e podem se desenvolver tanto em aerobiose, quanto em anaerobiose (ENE & BENNETT, 2014).

No ano de 1963, apenas cinco espécies de *Candida* eram consideradas de importância médica: *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. stellatoidea*, *C. tropicalis* e *C. guilliermondii* (GIRI & KINDO, 2012). Atualmente mais de vinte espécies de *Candida* têm sido relatadas como agente etiológico emergente, capazes de causar infecção oportunistas em seres humanos. Embora muitas espécies tenham emergido como patógenos de interesse clínico (CLEVELAND et al, 2012; ASMUNSDOTTIR et al, 2013; NUCCI et al, 2013; LI et al, 2015). A espécie *C. albicans* ainda tem sido apontada como sendo relevantes patógenos nosocomiais, principalmente em infecções fúngicas hospitalares e fungemia (CALDERONE & CLANCY, 2011; CHAVES et al, 2012; CDC, 2013; CASSONE, 2013; YOUNES & KHALAF, 2013).

Apesar de sua co-evolução junto ao homem, como comensal, acredita-se que *C. albicans* tenha na maioria das vezes origem endógena, devido a capacidade que a levedura tem de colonizar, penetrar e causar danos ao tecido do hospedeiro, esses fatores dependem de um equilíbrio entre fatores de virulência do micro-organismo e de fatores específicos ligados ao hospedeiro. Quando ocorre um desequilíbrio no sistema imunológico, esta levedura, se torna patogênica, causando dois principais tipos de infecções nos seres humanos: infecções superficiais, como a candidíase oral (OC) e candidíase vulvovaginal (CVV), e a infecções invasiva (candidemia). São

doenças geralmente associadas ao avanço da medicina, pois seus fatores de risco estão ligados ao uso de práticas invasivas como dispositivos endovasculares, transplantes de órgãos, uso prolongado de antibióticos de largo espectro, tratamento com drogas imunossupressoras, neutropenia e diálise (GIRI & KINDO, 2012; CALDERONE & CLANCY, 2011; CHAVES et al, 2012; CASSONE, 2013; YOUNES & KHALAF, 2013). Esses métodos invasivos podem acarretar infecções sistêmicas, podendo atingir a corrente sanguínea dos pacientes debilitados e essas infecções podem ser disseminadas, podendo atingir os principais órgãos como: fígado, baço, rins e dentre outros (GIRI & KINDO, 2012; GOW et al, 2012; CDC, 2013).

A candidíase oral (OC), juntamente com a candidíase vulvovaginal (CVV), são consideradas as duas formas mais comuns de infecções fúngicas oportunistas. A colonização por *C. albicans* pode se tornar um agravante, principalmente em pacientes, portadores de Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS), Câncer e Síndrome de Down, idosos, mulheres grávidas, pessoas com diabetes mellitus, entre outros (GIRI & KINDO, 2012; CLEVELAND et al, 2012; CHAVES et al, 2013; ASMUNDSDOTTIR et al, 2012; 2013; NUCCI et al, 2013; LI et al, 2015).

Outra infecção causada por *C. albicans* é a candidíase oroesofágica (COE) que é caracterizada por um quadro clínico grave, com manifestações crônicas, principalmente nos pacientes com HIV, devido às alterações que ocorrem no sistema imunológico mediado por células, principalmente, linfócitos TCD4+ os quais são mais atingidos (YAPAR, 2014). Desde o surgimento da AIDS tem sido reportado o aumento de Candidíase oroesofágica em paciente HIV, sendo este um importante marcador da progressão da evolução clínica da infecção, ocorrendo em entorno de 80 a 95% dos pacientes (GIRI & KINDO, 2012; CHAVES et al, 2013; YAPAR, 2014).

Outra infecção causada por *C. albicans* é a candidíase vulvovaginal (CVV) que é muito comum entre as mulheres (GUZEL et al, 2011). Estudos indicam que 20% a 25% das mulheres normalmente saudáveis e completamente assintomáticas apresentam culturas de secreção vaginal positivas para essa levedura, o que indica a importância da colonização vaginal prévia para o desenvolvimento da infecção (GUZEL et al, 2011). A CVV representa 20% a 25% dos corrimentos vaginais de natureza infecciosa, precedida apenas pela vaginose bacteriana (GUZEL et al, 2011). Estima-se que aproximadamente 75% das mulheres no mundo tenha pelo menos um episódio de candidíase vulvovaginal na vida. Destas, 40 a 50% têm mais de um

episódio no ano e 5 a 8 % apresentam quadro de candidíase vulvovaginal recorrente (CVVR). Acredita-se que 5,7 % dos bebês esteja colonizado durante o nascimento, sendo que este número aumenta para 14,2% no momento em que os mesmos deixam o ambiente hospitalar, passando a regredir após um ano de idade, e aumentando durante a senilidade (GUZEL et al, 2011). Apesar da alta taxa de incidência e morbidade associada as infecções superficiais por *C. albicans*, essas infecções não se tornam letais. Ao contrário, das candidíases sistêmicas (candidemia), que a cada ano têm sido reportadas altas taxas de morbidade e mortalidade e tempo de internação, aquelas apenas produzem consideráveis aumentos nos custos hospitalares (ZAOUTIS et al, 2005; GIRI & KINDO, 2012; CDC, 2013; NUCCI et al, 2013; QUINDÓS, 2014).

A candidemia constitui importante problema de saúde pública no Brasil e no mundo (CDC, 2013). A taxa de candidemia causada por *C. albicans* varia de 37% na América Latina e 70% nos países nórdicos. Porém candidemia invasiva continua sendo umas das causas relevantes de infecção sanguínea em hospitais de atenção terciária e quaternária (GIRI & KINDO, 2012). A candidemia é a quarta causa mais comum de infecção associada a corrente sanguínea nos Estados Unidos (EUA). Sendo que em alguns hospitais, é a causa mais comum de infecção (CDC, 2013). Segundo (CDC, 2013) aproximadamente 46 mil infecções por *Candida* ocorrem nos (EUA) a cada ano, principalmente em pacientes hospitalizados. E cerca de 30% dos pacientes com infecção na corrente sanguínea morrem durante a internação, pois as cepas envolvidas nestas infecções são resistentes aos antifúngicos. Nos últimos anos, vários inquéritos de base populacional nos Estados Unidos, Alemanha, Canadá, China, Chile, Espanha, Europa, Austrália e Islândia têm relatado a incidência crescente de *C. albicans* (PFALLER et al, 2011; GIRI & KINDO, 2012; CLEVELAND et al, 2012; ASMUNDSDOTTIR et al, 2012; 2013; BLANCO-BLANCO et al, 2013; BASSETTI et al, 2013; NUCCI et al, 2013; MA et al, 2013; MEYER et al, 2013; CORZO-LEON et al, 2014; LI et al, 2015). As infecções fúngicas têm crescido significativamente, em decorrência desses aumentos, e cada vez mais se observa a resistência de *C. albicans* aos antifúngicos disponíveis.

3.2.2. Resistência aos antifúngicos

Os antifúngicos frequentemente empregados para tratamento das infecções causadas por *Candida* são: Fluconazol, voriconazol, itraconazol e anfotericina B (GUALCO et al, 2007). Os antifúngicos podem ser divididos em 4 classes, de acordo com o seu modo de ação: (i) derivados dos **azoles**, imidazoles e triazoles, como por exemplo o fluconazol, varicozol, cetoconazol, itraconazol, posaconazol, (ii) **polienos macrolídeos**, Anfotericina B e as suas formas lipídicas, (iii) **pirimidinas**, Flucitosina, (iv) **equinocandinas**, caspofungina e micafungina (LOEFFLER & STEVENS, 2003). Os antifúngicos triazólicos, são considerados eficazes no tratamento de candidíases, pois possuem boa biodisponibilidade via oral e baixa incidência de efeitos adversos ao contrário anfotericina B (NENOFF et al, 1999; PFALLER et al, 2012a; PFALLER et al, 2012b).

Os mecanismos de resistência aos antifúngicos triazoles pode surgir a partir de uma modificação na quantidade ou qualidade da enzima alvo, redução do acesso do fármaco ao alvo. Esses mecanismos ocorrem em cepas MDR ou através de bombas de fluxo ou combinações de alguns mecanismos de resistência que ocorrem entre as *Candida* resistentes às drogas (CDR) (PFALLER & DIEKEMA, 2007; RICARDO, 2011; PERLIN, 2011; SANGUINETTI et al, 2015). As de espécies de *Candida* resistentes aos azólicos, tem dificultado o tratamento e têm emergido em pacientes com infecções fúngicas oportunistas. Estes fármacos são frequentemente utilizados em terapia antifúngica de pacientes com HIV, em decorrência de constantes recidivas de candidíase bucal ou esofágica. Essas ocorrências tem sido um fator predisponentes no aumento de resistência aos azoles. Nos dias atuais cada vez mais se observa a resistência de cepas de *Candida* aos antifúngicos de primeira linha e de segunda linha (TURNIDGE & PATERSON, 2007; PFALLER et al, 2012a; PFALLER, 2012b; FOTHERGILL et al, 2014). A tendência da resistência a antifúngicos têm recebido pouca atenção, mas cada vez mais se observa a resistência de cepas em alguns países e a maioria das que são resistentes aos azoles são isolados de pacientes com HIV. Essa redução da susceptibilidade aos azólicos entre esses grupos aumenta devido a exposição a repetidas terapias antifúngicas, ou resistência cruzada, sendo essa ocorrência um fator de risco devido a susceptibilidade reduzida (PFALLER & DIEKEMA, 2007; PFALLER et al, 2012a; PFALLER, 2012b). Alguns estudos recentes demonstram uma taxa mais elevada de resistência de *Candida* frente aos antifúngicos

triazoles (MARTEL et al, 2010; CLEVELAND et al, 2012; LIU et al, 2013; JENSEN et al, 2015). Outra droga que tem sido considerada o padrão ouro para o tratamento de infecções sistêmicas é a anfotericina B. A anfotericina B é um dos antifúngicos mais utilizados para paciente com infecções fúngicas progressivas, e utilizado devido seu amplo espectro. E apesar do amplo espectro, sua toxicidade limita seu uso (VINCENT et al, 2013). A resistência à Anfotericina B não está muito documentada, embora muitos autores relatam a resistência devido a ação dos azoles através da inibição da biossíntese do ergosterol (VINCENT et al, 2013; REN et a, 2014; JENSEN et al, 2015). Outra classe bastante usada no tratamento de candidemia são as equinocandinas, esse agente é bastante usado no tratamento de infecções primárias (PERLIN, 2011). A susceptibilidade reduzida ou resistência a equinocandinas têm sido associadas a mutações pontuais e intrínsecas a região específica de genes que codificam as subunidades de FKS β (1,3) D-glucano (PERLIN, 2007; SANGUINETTI et al, 2015) e vários estudos mostram a resistência frente a esse antifúngico (BOUCHERIT-ATMANI, et al 2011; JENSEN et al, 2015).

3.3. Malária

3.3.1. O agente etiológico e a sua importância para saúde pública

A malária é transmitida por parasitas do filo Protozoa, classe Sporozoa, família Plasmodiidae, gênero *Plasmodium*. Cinco espécies são capazes de infectar o homem: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* e *Plasmodium knowlesi* (BIAMONTE *et al*, 2013; WORLD, 2014c; BRASIL, 2014). No Brasil, há três espécies associadas à malária em seres humanos: *P. falciparum*, *P. vivax*, e *P. malariae* (BRASIL, 2014; WORLD, 2014c). Nunca foi registrada transmissão autóctone de *P. ovale* no Brasil, pois esta espécie é restrita a determinadas regiões da África, mas já foram relatados casos importados no Brasil (BRASIL, 2014). O *P. knowlesi* é um parasita encontrado em macacos asiáticos, mas têm sido registrados casos humanos (BRASIL, 2014). O *P. falciparum* e *P. vivax* são os mais prevalentes. *P. falciparum* é responsável pela forma mais grave da doença com maiores índices de complicações e mortalidade (WORLD, 2014c). A malária é uma doença infecciosa, mais prevalente e mortal em toda a África, Ásia e América, sendo uma doença com manifestações episódicas de caráter agudo, transmitida por mosquitos do gênero *Anopheles* (TEMIZ & GUL, 2008; BIAMONTE *et al*, 2013; BRASIL, 2014).

De acordo com a OMS (2014) a malária, também conhecida como paludismo, é uma das doenças tropicais e parasitárias mais antigas conhecidas. Por séculos, a malária interferiu no desenvolvimento econômico de diversos países e ainda continua sendo um relevante problema social e econômico para as populações em risco. Um dos fatores que contribuíram para a propagação foi o crescimento populacional desordenado, bem como a destruição dos ambientes naturais do mosquito e a piscicultura que possibilitou o surgimento de criadouros para vetores, levando a um aumento nas populações de *Anopheles*, elevando, assim, o risco de transmissão da doença (BRASIL, 2014; PARISE, 2014).

Mesmo com avanço para a erradicação da malária, ela continua sendo um grave problema de saúde pública no mundo, sendo que quase 50% da população mundial (3,4 bilhões de pessoas) vive em áreas de risco, com curso de transmissão em 97 países e territórios, e com 7 países em fase de prevenção da sua reintrodução, totalizando 104 países e territórios em que a malária é atualmente considerada

endêmica (WORLD, 2014c; BRASIL, 2014). Segundo a OMS (2012) foram estimados 207 milhões de casos e 627.000 mortes no mundo em 2012, principalmente em crianças menores de 5 anos e mulheres grávidas, especialmente em países de clima tropical, onde o controle requer abordagens integradas incluindo prevenção com a eliminação do vetor e tratamento com drogas antimaláricas efetivas (WORLD, 2014c). E MURRAY et al, (2012) sugere que a mortalidade é duas vezes maior quando inclui casos de malária que não são diagnosticados ou não tratados. Os casos de malária têm sido relatados em países da América central, América do Sul, África e Sudeste Asiático, sendo que sua maior incidência é no continente africano, mais precisamente ao sul do deserto do Saara (MURRAY et al, 2012; WORLD, 2014c).

No Brasil, a distribuição geográfica de ocorrência da malária é extensa. As áreas endêmicas originais, foram delimitadas nos anos 50 por meio de estudos entomológicos e detecção de casos, que abrangia cerca de 6,9 milhões de km² do território brasileiro. Na região amazônica verifica-se uma concentração crescente de casos de malária nos últimos anos, com mais de 99% dos casos registrados (BRASIL, 2011; BRASIL, 2013; BRASIL, 2014). Nesta região, a infecção não é uniforme, conseqüente das más condições habitacionais que muitas populações se encontram, e com isso tornam-se mais vulneráveis à doença (FRASSON et al, 2009; PARISE, 2014).

No período de 2000 a 2011, foram notificados 99,7% dos casos na região Amazônica, considerada área endêmica no país. Neste período, foram notificados uma média de 422.858 casos por ano, e esse alto nível de endemicidade concentrou-se na Amazônia Legal, que engloba o Estado do Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins. Essas regiões apresentam características geográficas e ecológicas favoráveis à interação do mosquito (BRASIL, 2013; BRASIL, 2014). A maioria dos casos ocorreram em áreas rurais e indígenas com cerca de 85% destes mas há registro da doença também em áreas urbanas (cerca de 15%). Fora da região amazônica, mais de 80% dos casos notificados são importados dos estados pertencentes a área endêmica brasileira, de outros países amazônicos, continente africano e Paraguai. Entretanto, existe transmissão residual de malária no Piauí, Paraná e em áreas de Mata Atlântica nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo. Apesar das poucas notificações nesses

locais, a doença não pode ser negligenciada, pois se observa uma letalidade mais elevada nestas áreas do que nas regiões endêmicas (BRASIL, 2013; BRASIL, 2014).

No estado do Amazonas no ano de 2010, foram notificados 74.130 casos de malária sendo que 73.291 foram casos autóctones, correspondendo a (22,7%). No mesmo ano 15 municípios do estado do Amazonas estavam entre os municípios que contribuíram com 80% dos casos de malária na Amazônia Brasileira: Manaus, São Gabriel da Cachoeira, Eirunepé, Atalaia do Norte, Coari, Barcelos, Tabatinga, Manicoré, Tefé, Lábrea, Borba, Tapauá, Rio Preto da Eva, Itacoatiara e Guajará. No entanto, apesar de estarem incluídos na lista de municípios responsáveis por 80% da malária, em 11 municípios foi observado um decréscimo no número de casos entre o ano de 2009 para 2010, que variaram de (-3,9%) para Rio Preto da Eva e (-58,6%) em Tefé. Apenas os municípios São Gabriel da Cachoeira (154%) e Eirunepé (80,3%) apresentaram um aumento do número de casos. Sendo que a proporção de *P. falciparum* no estado foi de (12,2%) e nos 15 municípios mencionados acima foram de (11,8%). Nos municípios de Eirunepé, Barcelos, Atalaia do Norte, Borba e São Gabriel da Cachoeira, houve um aumento de malária por *P. falciparum*. Mas apesar do aumento, houve um decréscimo de internações no estado (16%) e nos 15 municípios (15,8%), entretanto na Amazônia Legal, houve um aumento de (14,5%) (BRASIL, 2011).

3.3.2. Quimioterapia e Resistência de *Plasmodium falciparum* aos medicamentos Antimaláricos

Entre os principais antimaláricos frequentemente empregados na terapêutica encontram-se: aminoquinolinas (cloroquina, amodiaquina, primaquina, quinina, quinidina e mefloquina); os antifolatos (sulfadoxina); diaminopirimidinas (pirimetamina); as lactonas sesquiterpenas (artemisinina) e alguns antibióticos (tetraciclina, doxiciclina e clindamicina combinado principalmente com a quinina) (JORDÃO, 2007; MITA & TANABE, 2012). A quinina foi o primeiro medicamento utilizado contra a malária até o início do século XX, e esta foi substituída por fármacos sintéticos derivados do seu anel quinolínico (MITA & TANABE, 2012; BIAMONTE et al, 2013; PACKARD, 2014). Apesar de sua toxicidade, a quinina continua sendo utilizada no tratamento da malária grave, causada pelo *P. falciparum* resistente à cloroquina (PACKARD, 2014). O desenvolvimento da resistência intrínseca do *P. falciparum* às quinolinas antimaláricas, especialmente à cloroquina, ocorreu de forma lenta, mas hoje é bastante comum ao redor do mundo e particularmente nos lugares onde há grande pressão do uso das drogas antimaláricas (BIAMONTE et al, 2013; PACKARD, 2014).

O protótipo cloroquina e 4-aminoquinolina, foram amplamente utilizados durante décadas para todo os tipos de malária (MITA & TANABE, 2012; BIAMONTE et al, 2013). No entanto, tem sido relatado a resistência à cloroquina, em especial por *P. falciparum*, em diversos locais onde a malária é endêmica. Apesar do aumento da resistência frente a essa droga ainda é utilizado para tratar outras espécies, mas é pouco utilizado contra *P. falciparum* (MITA & TANABE, 2012; BIAMONTE et al, 2013).

A primaquina, uma 8-aminoquinolina é ativa contra hipnozoítos hepáticos de *P. vivax* e *P. ovale* (MUELLER et al, 2009; WELLS et al, 2010; MITA et al, 2012; BIAMONTE et al, 2013), mas pouco eficaz contra estágios eritrocíticos do parasito. Sua utilização é também recomendada em áreas endêmicas da malária por *P. falciparum*, uma vez que a mesma possui ação contra gametócitos, inibindo a evolução do parasito no vetor susceptível e, conseqüentemente, interrompendo a transmissão da doença (MITA & TANABE, 2012; BIAMONTE et al, 2013), entretanto tem sido observada resistência (MITA & TANABE, 2012; BIAMONTE et al, 2013)

A mefloquina, um 4-quinolinometanol derivado da cloroquina, é mais ativa que a cloroquina sendo utilizada contra cepas de *P. falciparum* resistentes as 4-

aminoquinolinas (MITA & TANABE, 2012; BIAMONTE et al, 2013). No entanto, por possuir meia vida prolongada, propiciou rápida seleção de parasitos resistentes. Atualmente é recomendada somente em combinação com outros compostos, sobretudo com derivados de artemisinina (WORLD, 2014c).

A resistência aos medicamentos antipalúdicos, se tornou ameaça mundial, desde o surgimento da resistência à cloroquina por *P. falciparum* nos anos 50 na Tailândia, e se espalhou no Sudeste da Ásia e África (PACKARD, 2014). No contexto da busca de novos antimaláricos eficazes e seguros para combater *P. falciparum* resistentes, foi que surgiram as drogas a base de artemisinina (MITA & TANABE, 2012; PACKARD, 2014). A artemisinina e seus derivados se enquadram em uma classe de drogas bastante utilizadas nos dias atuais (MITA & TANABE, 2012). Num esforço para combater a resistência dos antimaláricos a base de artemisinina a OMS monitora a eficácia terapêutica e a resistência de *P. falciparum* frente à artemisinina (O'BRIEN et al, 2011; DONDORP et al, 2011; WORLD, 2011; MITA & TANABE, 2012; FERREIRA et al, 2013; PACKARD, 2014). Mesmo com esforço da OMS em restringir o uso das drogas para que não ocorra a resistência, alguns autores relatam a resistência de *P. falciparum* a seus derivados no sudeste asiático (PHYO et al, 2012; TALUNDZIC et al, 2015). O surgimento do *P. falciparum* multirresistentes, nessa região, se torna um problema de saúde pública urgente que ameaça o esforço global em curso para reduzir o paludismo (DONDORP et al, 2010; 2011; FAIRHURST et al, 2012; PHYO et al, 2012; TALUNDZIC et al, 2015). A ameaça representada pela resistência emergente à artemisinina na fronteira do Camboja com a Tailândia é amplamente reconhecido, no entanto se a resistência a esta droga se espalhar de forma desordenada, não só irá colocar em risco a meta de erradicação da malária, mas também irá resultar em grandes aumentos na mortalidade infantil na África e nos países onde a malária é endêmica (DONDORP et al, 2011; PACKARD, 2014; AUNG et al, 2015).

3.3. Plantas medicinais

O emprego de plantas medicinais na recuperação da saúde tem evoluído ao longo dos tempos. Registros escritos como os antigos hieróglifos egípcios, a Bíblia e os manuais chineses de fitoterapia descrevem o uso extensivo de produtos naturais para fins medicinais (BALBACH 1972; LORENZI, 1999; LORENZI et al, 2002). Nestes casos, o homem percebeu nas plantas a presença de algo que, administrado sob misturas complexas (como chás, garrafadas, tinturas, pós, entre outros) ou como substância pura isolada (transformada em comprimidos, gotas, pomadas ou cápsulas), tem a propriedade de provocar reações benéficas no organismo, resultando a recuperação da saúde, (BALBACH, 1972; ROBERTS et al, 1997; YUNES & FILHO, 2001; YUNES, 2001; LORENZI et al, 2002; VIRTUOSO et al, 2005; ALONSO, 2008; OLIVEIRA, 2009). Entretanto, no século XIX, Friedrich Wohler, ao sintetizar a ureia a partir de uma substância inorgânica, inaugurou a indústria de síntese química (YUNES & FILHO, 2001; ALONSO, 2008). Mesmo com o advento de drogas sintéticas, o estudo de plantas medicinais continuou sendo de grande importância para a população, principalmente nos países em desenvolvimento, nos quais o acesso à medicina alopática ainda é muito restrito (CORDELL, 1993; GUIMARÃES et a, 2010; MARINHO et al, 2011; SOUZA et al 2013; SÁ et al, 2014).

As plantas são utilizadas tradicionalmente por diversas culturas no controle e cura de doenças e pragas. Por volta de 1970, a organização mundial de saúde reconheceu os benefícios da medicina fitoterápica que está baseada em extratos de plantas. Deste reconhecimento começaram a surgir pesquisas desenvolvidas a partir de fontes naturais (NEWMAN et al, 2000). Nas últimas décadas as substâncias antimicrobianas representam talvez o maior avanço da farmacoterapia, com progresso sem limites dentro da terapêutica medicamentosa (VALE, 2012). O conhecimento sobre o potencial terapêutico dos vegetais tem despertado o interesse científico, buscando nesse conhecimento, novos caminhos para o controle e tratamento de diversas doenças. Pesquisas de tal natureza no Brasil são de grande valia, pelo fato do país ser considerado um dos maiores reservatórios de biodiversidade do mundo e, além disso, a grande extensão territorial abriga diversos tipos de ecossistemas, cada um com suas particularidades, o que o torna fonte quase que inesgotável de moléculas a serem descobertas (FERREIRA et al, 2011a; 2011b; SANTOS et al, 2014). Muitas das publicações que se referem a atividade antibacteriana, foram baseadas em

ensaios empíricos com base no conhecimento popular, sendo que apenas 1% das espécies vegetais estão sendo estudadas (GUIMARÃES et al, 2010; MARINHO et al, 2011; SOUZA et al 2013; SANTOS et al, 2014)

No início da década de 1990, a Organização Mundial de Saúde relatou que 65 a 80% da população dependiam das plantas medicinais como uma única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde e a mesma aborda que as plantas medicinais deveriam ser as melhores fontes para obtenção de uma grande variedade de drogas. E diversas plantas são comercializadas apoiadas em anúncios que prometem “benefícios seguros, já que se trata de fonte natural”. E muitas vezes, as supostas propriedades farmacológicas são usadas empiricamente, sem respaldo científico quanto a sua eficácia, ou por não terem tido suas ações farmacológicas comprovadas em testes científicos pré-clínicos ou clínicos (JUNIOR et al, 2005). O uso de combinações de plantas para propósitos farmacêuticos tem gradualmente aumentado no Brasil. De acordo com Organização Mundial Saúde as plantas medicinais seriam a melhor fonte para obtenção de uma grande variedade de drogas mais eficazes. Aproximadamente 80% dos indivíduos de países desenvolvidos e em desenvolvimento usam a medicina tradicional que derivaram de plantas medicinais, as quais deveriam ter suas propriedades investigadas confirmar sua eficácia terapêutica (ELLOF, 1998; PRASHAR et al, 2003; GUIMARÃES et al, 2010; MARINHO et al, 2011; SOUZA et al 2013; SANTOS et al, 2014).

No Brasil, o conhecimento do uso das plantas medicinais é o resultado de uma miscigenação cultural envolvendo africanos, europeus e indígenas, com introdução de espécies exóticas pelos colonizadores e escravos (MATOS, 1997). Segundo SOUZA et al (2013) foi avaliado o uso de plantas medicinais em usuários do serviço público de saúde em Campina Grande, e foi constatado que 65,0% dos participantes utilizavam plantas medicinais contra processos infecciosos. Esse uso de plantas medicinais no cotidiano vem aumentando como alternativa nos tratamentos e cura de diversas doenças. Em um estudo feito no município de São José de Espinharas, Paraíba, MARINHO et al, (2011) constataram que 50% da população utilizava plantas medicinais para tratar diversas doenças, inclusive doenças infecciosas.

No município de Barreirinha (AM), inspirado no modelo de Matos, foi implantado um projeto, que, além de diminuir os custos com medicamentos, gera renda as comunidades produtoras, já que são beneficiadas com a compra de seus produtos

naturais pela prefeitura do local (MATOS, 1997). Este modelo de Assistência Farmacêutica Social retifica o conceito de que a Amazônia, com sua flora rica e singular, com espécies variadas e únicas, pode ser considerada hoje, o maior recurso natural do planeta proporcionando a prática da terapêutica natural, que é bastante forte na região (OLIVEIRA, 2009). As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem, de forma relevante, para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais, prescritos com frequência, pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de não terem seus constituintes químicos conhecidos, tornando válidas informações terapêuticas que foram sendo acumuladas durante séculos (COWAN, 1999; GUIMARÃES et al, 2010). Porém, desde o advento dos antibióticos, o uso de derivados de plantas como antimicrobianos tem sido virtualmente inexistente (COWAN, 1999).

Várias pesquisas sobre determinadas espécies vegetais com propriedades antimicrobianas têm sido revistas e ampliadas na região amazônica, pela ampla biodiversidade da flora, abrigando mais de 50 mil espécies de plantas, distribuídas em grandes biomas: a Amazônia com 25-30 mil espécies, a Mata Atlântica com 16 mil, o Cerrado com 7 mil e as demais espécies distribuídas na Caatinga e na Floresta Subtropical (EMBRAPA, 2010; FORZZA et al, 2010).

Embora muitas indústrias químicas e farmacêuticas tenham produzido uma imensa variedade de antimicrobianos nos últimos tempos, cada vez mais se observa o aumento de micro-organismos resistentes aos antimicrobianos disponíveis no mercado, e com isto, aumenta a busca de novas substâncias com atividades antimicrobianas, antifúngicas e antimaláricas (GUIMARÃES et al, 2010; RABELO et al, 2014; SÁ et al, 2014). Desde 2002, a Infectious Diseases Society of America (IDSA) manifestou preocupação com a ausência de progressos no desenvolvimento de novos antimicrobianos para tratar MDR, principalmente fármacos voltados ao combate de bactérias Gram-negativas e *Plasmodium* spp. MDRs (BIAMONTE et al, 2013). Assim as plantas têm se tornado objetos de estudos científicos no que concerne uma ampla diversidade molecular muito superior àquela derivada de produtos sintéticos. No entanto os antimicrobianos constituem um grupo especial de agentes terapêuticos, geralmente produzidos e obtidos a partir de substâncias naturais ou após sofrerem modificações. Muitas substâncias, em pequenas concentrações, possuem atividade letal contra os agentes etiológicos, ou inibitória, prevenindo o desenvolvimento dos

agentes patogênicos (NETO et al, 2002). A atividade antimicrobiana é um item relevante na caracterização de extratos vegetais, devido ao número bastante grande de doenças infecciosas que acometem ao homem e ao desenvolvimento de resistência dos micro-organismos às drogas convencionais disponíveis hoje (COWAN, 1999; CALIXTO & YUNES, 2001; YUNES, 2001; LIMA et al, 2001). Assim os produtos naturais têm sido fontes valiosas para o desenvolvimento desses novos compostos (NEWMAN et al, 2000), permitindo a descoberta de agentes terapêuticos, não somente para tratar doenças infecciosas, mas também para tratar câncer, imunodeficiência e outras (CLARDY & WALSH, 2004). Extratos e óleos essenciais de plantas mostraram-se eficientes no controle do crescimento de uma ampla variedade de micro-organismos, incluindo fungos filamentosos, leveduras e bactérias (PIERI, et al, 2012; SANTOS, et al, 2008, CARNEIRO, et al, 2008; SANTOS et al, 2014).

No Brasil, os estudos sobre pesquisas antimicrobianas de origem vegetal tiveram impulso a partir de trabalhos de Gonçalves, (1959) e de outros pesquisadores, como SANTANA et al, (1968) que, também envolvidos em pesquisas de atividade antimicrobiana, relataram propriedades antitumorais de plantas nativas. Reportavam, contudo, que os estudos relacionados com a atividade biológica de produtos naturais eram escassos em vários países do mundo, tendo havido decréscimo nas prescrições que continham drogas de origem vegetal, entre os anos de 1950 a 1960. No entanto, em razão dos crescentes problemas associados ao uso indiscriminado de antibióticos, como os efeitos colaterais, alto custo e a crescente resistência de micro-organismos, entre outras questões de saúde pública, os estudos de substâncias oriundas de vegetais superiores adquiriram novas perspectivas (DAVIS, 1994).

De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 14 de 31 de março de 2010 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os fitoterápicos são medicamentos obtidos empregando-se exclusivamente matérias primas ativas de vegetais, cuja eficácia e segurança são validadas por meio de levantamentos etnofarmacológicos, de utilização, documentações tecnocientíficas ou evidências clínicas. Os fitoterápicos são uma classe de medicamentos largamente utilizados no país e constituem um mercado em franca expansão (YUNES & CALIXTO, 2001; LIMA et al, 2001) muitas vezes as supostas propriedades farmacológicas anunciadas não possuem validade científica, por não terem sido investigadas ou por não terem apresentadas suas ações farmacológicas comprovadas em testes científicos pré-

clínicos ou clínicos (GUIMARÃES et al, 2010; MIRANDA, 2013; SOUZA et al 2013; SANTOS et al, 2014).

Estima-se que, cerca de 44% dos medicamentos atualmente disponíveis, foram desenvolvidos, direta ou indiretamente, a partir de fontes naturais, como plantas, micro-organismos e animais (HOSTETTMANN et al, 2003; BRASIL, 2005), além disso, estima-se que das 252 substâncias consideradas básicas e essenciais pela OMS, 11% são originárias de plantas e nos países industrializados, 25% dos medicamentos prescritos são originários de plantas, (LIMA et al, 2001; HOSTETTMANN, et al 2003; BRASIL 2004; BRASIL, 2005; SCHENKEL et al, 2005). A importância histórica das substâncias ativas obtidas de plantas como protótipo para o desenvolvimento de fármacos pode ser sucintamente demonstrada pela cronologia contida na tabela 1 (SILVA & ROTHSCHILD, 1968; ROCHA & SILVA 1973).

Gênero	Fármaco	Ano da descoberta	Utilidades terapêutica
<i>Digitalis</i>	Digitoxina	1785-1875	Cardiotônico
<i>Papaver</i>	Morfina	1805	Hipnoanalgésico
<i>Cinchona</i>	Quinina	1820	Antimalárico
<i>Atropa</i>	Atropina	1833	Anticolinérgico
<i>Physostigma</i>	Fisostigmina	1864	Anticolinesterásico
<i>Pilocarpus</i>	Pilocarpina	1875	Colinérgico
<i>Ephedra</i>	Efedrina	1887	Adrenérgico
<i>Erythroxylum</i>	Cocaína	1895	Anestésico
<i>Chondodendrum</i>	Tubocurarina	1895	Bloqueador neuromuscular
<i>Claviceps</i>	Ergotamina	1922	Bloqueador adrenérgico
<i>Melilotus</i>	Dicumarol	1941	Anticoagulante
<i>Rauwolfia</i>	Reserpina	1952	Neuroléptico
<i>Artemisia</i>	Artemisinina	1985	Antimalárico

Tabela 1 – Cronologia da descoberta de fármacos protótipos de categorias Terapêuticas, a partir de plantas: Fonte: ROCHA & SILVA, 1973; SILVA & ROTHSCHILD, 1968.

Várias pesquisas sobre determinadas espécies vegetais com propriedades antimicrobianas têm sido revistas e ampliadas na região amazônica, pela ampla biodiversidade da flora. Estudos recentes demonstram atividades antimicrobianas, antifúngicas e antimaláricas de diversas plantas típicas da região amazônicas CARNEIRO, et al, 2008; RIBEIRO, 2008; CURSINO et al 2011; FERREIRA et al, 2011a; RABELO et al, 2014).

A região Amazônica oferece um enorme potencial para a descoberta de novos compostos bioativos, fazem-se essenciais pesquisas direcionadas para a prospecção da quimiodiversidade. Uma forma assertiva de conduzir esses estudos

é por meio de uma abordagem etnofarmacológica, que consiste em combinar informações adquiridas junto a comunidades locais que fazem uso da flora medicinal com estudos químico-farmacológicos realizados em laboratórios especializados (ELISABETSKY & SOUZA, 2004; TUROLLA & NASCIMENTO, 2006). Neste contexto, as espécies vegetais *Annona muricata*, *Averrhoa carambola*, *Astrocaryum aculeatum*, *Bertholletia excelsa*, *Caryocar villosum*, *Dioscorea alata*, *Euterpe precatória*, *Euterpe oleracea*, *Garcinia madruno*, *Inga edulis*, *Mauritia flexuosa*, *Paullinia cupana*, *Platonia insignis*, *Protium klugii*, *Pouteria caimito*, *Rollinia mucosa*, *Theobroma grandiflorum*, *Theobroma subincanum* e as espécies da família Lauracea (*Aniba ferrea*, *Aniba guianensis*, *Aniba panurensis*, *Aniba parviflora*, *Licaria cannella angustata*, *Licaria martiniana*, *Ocotea leucoxyllum* foram escolhidas para o estudo de possível atividade antibacteriana, antifúngica e antimalárica. Visto que essas espécies possuem diversas substâncias já comprovadas, e com isto, estimulam as varreduras biológicas.

3.3.1. *Annona muricata* L. (Graviola)

A *Annona muricata* L. pertence à família Annonaceae, é conhecida popularmente como graviola. Essa espécie é originária da América Central, sendo cultivada no Brasil, Colômbia, México, Havaí e algumas regiões da África e Ásia, sendo encontradas no Brasil nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Pernambuco, Paraíba Pará e Minas Gerais. Na medicina popular é usado para a hipertensão, diabetes, dor de estômago, febre e vômitos (ADJANOHOUN, 1996). Estudos farmacológicos demonstram atividades anti-hipertensiva, antiespasmódica, anti-inflamatória (HAMIZAH et al 2012), antiviral (PAARAKH et al, 2009), antibacteriana (PATHAK et al, 2010; VIEIRA et al, 2010), antidiabética e antioxidante (ADEWOLE & OJEWOLE, 2009; PATIL et al, 2013; FLORENCE et al, 2014; GAVAMUKULYA et al; 2014).

3.3.2. *Averrhoa carambola* L. (Carambola)

A *Averrhoa carambola* L. pertence à família oxalidaceae, é conhecida popularmente como carambola, originária do Sudoeste Asiático, e se encontra dispersa em regiões tropicais e em áreas quentes de regiões subtropicais de todos os continentes (MORTON, 1987; DONADIO et al, 2001). Na medicina popular as frutas são usadas para tratar tosse, intoxicação alimentar e esplenomegalia da malária. As

raízes são utilizadas para tratar dores de cabeça e artralgia e as folhas são usadas para o tratamento de furúnculos, resfriados, gastroenterite, enquanto as flores são usadas para tratar febre e malária (SUNG et al, 1998; DONADIO et al, 2001; SAGHIR et al, 2013). Alguns estudos demonstram atividades, antibacteriana e antifúngica, antioxidante, antiinflamatória, antiulcera, antitumoral entre outras (DONADIO et al, 2001; GONÇALVES et al, 2006; Mia et al, 2007; CABRINI et al, 2011; LI et al, 2014; WEI et al, 2014; LIRA JÚNIOR et al, 2014).

3.3.3. *Bertholletia excelsa* H.B.K. (Castanha do Brasil)

A *Bertholletia* pertence à família Lecythidaceae, é conhecida popularmente como castanha do Brasil, e sua espécie nativa da Amazônia e tem por habitat as terras firmes (SANTOS et al, 2014). É uma árvore cujo fruto apresenta alto valor alimentar e com expressão no comércio internacional, constituindo-se em um dos principais produtos extrativistas da pauta de exportação da Amazônia, principalmente do estado do Pará (SALOMÃO, 2009). Na medicina popular a casca da castanheira é utilizada para o tratamento de fígado, e a infusão de suas sementes para problemas estomacais e o óleo é usado como umidificador da pele. Vários estudos demonstram atividades antioxidante (JOHN & SHAHIDI, 2010), antibacteriana (COSTA et al, 2012).

3.3.4. *Caryocar villosum* Pers. (PIQUIÁ)

A *Caryocar villosum*, pertencente à família Caryocaceae, é conhecida popularmente como piquiá. Essa espécie é nativa da região amazônica. A polpa do seu fruto é consumida pelos habitantes locais e pertence a culinária amazonense, além de ser usado no preparo pratos regionais e de óleo comestível, o qual é utilizado como substituto de manteiga (CLAY et al, 2000). O óleo é utilizado pelas famílias rurais do Nordeste do Brasil para o tratamento de dermatofitoses, tais como micoses (*Tinea capitis*) e doenças fúngicas da pele (GRENAND et al, 2004). A folha é utilizada para o tratamento de resfriados, gripes, edemas, bronquites, tosses, queimaduras; a semente é usada como afrodisíaca (VIEIRA & MARTINS, 2000). Na Guiana Francesa tradicionalmente a polpa e a casca são utilizadas pelos habitantes como veneno para matar peixes. Em alguns estudos a polpa apresentou efeito antígenotóxico,

capacidade de varredura de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ALMEIDA et al, 2012; CHISTE et al, 2012),) e atividade anti-inflamatória (XAVIER et al, 2011).

3.3.5. *Dioscorea alata* L. (Cará roxo)

A *Dioscorea alata* L. pertence à família Dioscoreaceae, é conhecida popularmente como cará roxo, e tem origem e africana. O tubérculo foi trazido ao Brasil pelos escravos africanos, e se adaptou muito bem ao clima, hoje são bastante consumidos em diversos países (HUANG et al, 2006; DAS et al, 2012). É composta por aproximadamente 8 gêneros e 650 espécies, é um alimento altamente energético, possui grande quantidade de vitaminas, é auxiliar do processo digestivo e dentre outros benefícios (HUANG et al, 2006; DAS et al, 2012). Na medicina popular brasileira, é usada para tratar coqueluche, doenças de vias respiratórias, falta de memória, bronquites, coceiras, úlceras e feridas (BENSKY & GAMBLE, 1993; WANG et al, 2011). Estudos demonstram atividade antioxidantes (DAS et al, 2012; SAKTHIDEVI & MOHAN, 2013) e antifúngica (CO et al, 2013).

3.3.6. *Euterpe oleracea* e *E. precatória* (AÇAÍ)

O gênero *Euterpe* possui cerca de 28 espécies localizadas nas Américas Central e na América Sul, estando distribuídas por toda bacia Amazônica (SANTOS et al, 2014). *E. Precatória* é uma espécie nativa do estado do Amazonas, conhecida popularmente como “açai do Amazonas“, e é encontrada na bacia do rio Solimões, em terreno de terra firme e área de baixio (CAVALCANTE, 1996; ALMEIDA et al, 2004; SANTOS et al, 2014). A *E. oleracea*, conhecida popularmente como “açai do Pará”, é encontrada, sobretudo, em terrenos de várzea e igapó. A espécie nativa da Amazônia, tem suas maiores populações concentradas nas florestas da Amazônia Oriental, principalmente, nos Estados do Pará, Amapá e Maranhão, mas pode ser encontrada nos países: Venezuela, Colômbia, Equador e Guianas (CAVALCANTE, 1996). Estas espécies têm alto potencial econômico, principalmente pelo uso de seus frutos na preparação do “vinho de açai” que são exportados para todo o mundo como energéticos. A polpa deste fruto tem sido objeto de estudos em função do valor nutritivo, sendo considerado um alimento nutracêutico pelo elevado teor de substâncias bioativas (SABBE et al, 2009; MENEZES et al, 2011). Na medicina

popular brasileira, ele é utilizado no combate aos distúrbios intestinais e as raízes são empregadas como vermífugos. O palmito, em forma de pasta, atua como anti-hemorrágico, quando aplicado após extrações dentárias. A polpa e o vinho tem sido a base para verificação de ação anti-inflamatória e antioxidante (KANG et al, 2012; AZEVEDO et al, 2015). Diversos estudos têm identificado atividades antimicrobiana, antioxidante (GONÇALVES et al, 2012; BELDA-GALBIS et al, 2015) e anti-inflamatória (KANG et al, 2011; KANG et al, 2012).

3.3.7. *Inga edulis* Mart. (Ingá)

Inga edulis (Mart) pertence a família Fabaceae, e são amplamente distribuídas nas florestas secundárias tropicais das Américas Central e América do Sul. Na medicina popular as folhas são utilizadas como anti-inflamatório, antidiarreico (SILVA et al, 2007b), antioxidante e antiulcerogênico (SILVA et al, 2007a; SOUZA et al, 2008a; POMPEU et al, 2012) e diversos estudos já comprovaram as propriedades farmacológicas dessa espécie (SILVA et al, 2007a; SILVA et al, 2007b; SOUZA et al, 2008b; POMPEU et al, 2012).

3.3.8. Lauraceae Juss.

Lauraceae é uma família botânica com distribuição tropical e subtropical, concentrada em florestas fluviais da Ásia e Américas (SOUZA, 2008b). Compreendendo cerca de 50 gêneros e aproximadamente 2500 espécies. No Brasil a família é reconhecida por aproximadamente 23 gêneros e 434 espécies, dos quais 18 gêneros e 125 espécies são encontrada região Nordeste (BARROSO et al, 2002; QUINET et al, 2011). No Amazonas são encontrados treze gêneros, os mesmos estão presentes na Reserva Florestal Ducke, em Manaus-AM: *Ocotea* com 41 espécies, *Licaria* com 15, *Aniba* com 13, *Endlicheria* com 11, *Rhodostemonodaphne* com 8, *Aiouea* com 3 e *Mezilaurus* com 8 espécies. A casca ou o fruto de algumas espécies são usados como condimentos (*Dicypellium caryophyllaceum*) ou para fazer chá (*Licaria puchury-major* e *Aniba canelilla*). Substâncias aromáticas para perfumaria são extraídas de algumas espécies, como a canela-sassafrás (*Ocotea odorifera*) e o pau-rosa (*Aniba rosaeodora*). Outras têm sido usados na medicina popular ou industrial, como a cânfora (*Cinnamomum camphora*) (RIBEIRO et al, 1999).

3.3.9. *Mauritia flexuosa* L. (Buriti)

A *Mauritia flexuosa* L. pertence à família arecáceae, popularmente conhecida como buriti, miriti e outros sinônimos (ALBUQUERQUE et al, 2005). Esta família é composta por aproximadamente 1.500 espécies e 200 gêneros (UHL & DRANSFIELD, 1987; ALBUQUERQUE et al, 2005). O buritizeiro é de origem amazônica, mas pode ser encontrado na Bahia, Ceará, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Pará, Piauí, Roraima, São Paulo e Tocantins, Venezuela, Guianas, Equador, Peru e Bolívia (ALBUQUERQUE et al, 2005; CYMERYYS et al, 2005). A fruta tem sido empregada nas indústrias alimentícias, farmacêuticas e de cosméticos (ALMEIDA et al, 2008; ALBUQUERQUE, et al, 2005; SANTOS et al, 2011; AQUINO et al, 2012; BARROS et al, 2014). Na medicina popular é utilizado como vermífugo, cicatrizante e energético (SOUZA & FELFILI, 2006) e alguns estudos demonstram a atividades antimicrobiana e antioxidante das folhas e tronco (KOOLEN et al, 2013a; SIQUEIRA et al, 2014). Os óleos demonstram atividades antibacteriana e cicatrizante (FERREIRA et al, 2011a; BATISTA et al, 2012; SIQUEIRA et al, 2014).

3.3.10. *Paullinia cupana* Kunth (Guaraná)

A espécie *Paullinia cupana* Kunth pertence à família Sapindaceae, composta por aproximadamente 150 gêneros e 2000 espécies. Essa espécie é encontrada nas áreas tropicais e subtropicais da América, com alta frequência na Amazônia brasileira, venezuelana e nas Guianas, a partir da região ocidental do rio Tapajós até a bacia do Rio Madeira, e partes do Paraguai e do Uruguai (ALONSO, 2007; LIM, 2013a). Na medicina popular é utilizado no tratamento de diarreia crônica, distúrbios respiratórios, como analgésico, febrífugo, para tratar hipertensão, enxaqueca, neuralgia e disenteria (BASILE et al, 2005; BREITBACH et al, 2013). Mais diversos autores descrevem a atividades biológica dessa espécie, tais como, atividade antibacteriana, antioxidante (BASILE et al, 2005; JAISWAL et al, 2012; PINTO, 2012; BASILE et al, 2013;) e antifúngica (MARTINS et al, 2014b).

3.3.11. *Platonia insignis* (Bacuri) e *Garcinia madruno* (Bacurizinho)

A *P. insignis* Mart e *Garcinia madruno* pertencem à família Clusiaceae, composta por mais de 47 gêneros e 1000 espécies, comumente conhecida como bacuri e Bacurizinho (NASCIMENTO et al, 2007). As espécies são encontradas em toda a Amazônia, sendo que a área de maior concentração das espécies é o estuário do Rio Amazonas (NASCIMENTO et al, 2007). Os frutos são bastante utilizados para elaboração de sucos, sorvetes, cremes, doces, compotas ou mesmo consumidos *in natura* pela população da Amazônia e parte do Nordeste do Brasil, particularmente nos estados do Maranhão e Piauí (NASCIMENTO et al, 2007). As sementes possuem um óleo rico em ácidos graxos como os ácidos palmítico, palmitoleico, esteárico, oleico e linoleico (BENTES et al, 1986; LIMA et al, 2007). Nos últimos anos houve um crescimento nos estudos envolvendo as propriedades farmacológicas de bacuri. Os estudos concentram-se principalmente na semente, de onde é extraída uma manteiga utilizada na medicina popular para tratar diarreias, problema de pele (COSTA JÚNIOR et al, 2013a), dor de ouvido (COSTA JÚNIOR et al, 2013b), doenças inflamatórias, dores de ouvido, picadas de aranhas e cobras (LUSTOSA, 2012), reumatismos, artrites (COSTA JÚNIOR et al, 2011a), cicatrizante e como Leishmanicida (COSTA JUNIOR et al, 2011b). As cascas apresentaram atividade antileishmania *in vitro* (SOUZA et al, 2010) e a polpa apresentou atividade antioxidante (RUFINO et al, 2010).

3.3.12. *Pouteria caimito* (Abiu)

A *Pouteria caimito* pertence à família Sapotaceae, que é composta por aproximadamente 450 espécies. O *P. caimito* é conhecido popularmente como abiu ou abeiro, e esta planta é nativa da região Amazônica e zonas limítrofes do Peru, Colômbia e Venezuela (LIM, 2013b). Ela vem sendo utilizada na medicina popular brasileira, para aliviar tosses, bronquites e outras doenças pulmonares. Os extratos das folhas já foram testados biologicamente, e apresentaram atividades antioxidantes (CASTRO et al, 2006).

3.3.13. *Protium klugii*

A espécie de *Protium klugii* pertence à família de *Burseraceae*, que é composta por aproximadamente 18 gêneros e 700 espécies. Essa espécie é conhecida

popularmente por copal, maaliol, breu e gugul, e principalmente por nomes que remetem a histórias da antiguidade, como mirra e frankincenso. *P. klugii* é encontrada em várias regiões tropicais e subtropicais do mundo. Essas espécies vêm sendo utilizadas pela medicina popular na forma de chás, estimulante, cicatrizante, analgésico contraceptivo, hemostático, antiblenorrágico, antireumático, e usado no tratamento de doenças pulmonares e do estômago (COSTA, 1975; PIO CORREA, 1994; MAIA et al, 2000; VIEIRA JUNIOR et al, 2005).

3.3.14. *Rollinia mucosa* (Biriba)

A *Rollinia mucosa* pertence à família Annonaceae, popularmente conhecida como biriba, fruta-do-conde, fruta-da-condessa, essa espécie é composta por aproximadamente 125 gêneros e 65 espécies (LIM, 2012a). O biribazeiro é nativo da América Central e América do Sul, e sendo a espécie introduzida no norte da Austrália e sudeste da Ásia, para fins experimentais (SANTOS et al, 2005; LIM, 2012a).

3.3.15. *Theobroma grandiflorum* Schum. (Cupuaçu) e *Theobroma subincanum* (Cupuí)

A *Theobroma grandiflorum* Schum e *Theobroma subincanum* (Cupuí) pertence à família Sterculiaceae, nativa da região Amazônica, mas também é encontrada no estado do Maranhão, nos Colômbia, Venezuela, Equador e Costa Rica, sendo conhecida popularmente como cupuaçu. O cupuaçuzeiro é uma das fruteiras mais atrativas da região amazônica, devido às características de sabor e aroma de sua polpa, que é empregada na fabricação de sucos, sorvetes, geléias, cremes, doces, etc. (FERREIRA et al, 2006; LIM, 2012b; SANTOS et al, 2014). Na medicina popular brasileira, a polpa é utilizada para tratar hipertensão, sua semente para dores abdominais (FERREIRA et al, 2006). Tem sido associada aos benefícios para a saúde humana, incluindo o aumento da capacidade antioxidante do plasma e inferior a peroxidação lipídica, mecanismo de proteção e doenças cardíacas (WEISBURGER, 2001; KATZ et al, 2011; OLIVEIRA & GENOVESE, 2013; GUIMARÃES et al, 2014).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em diversas etapas (Figura 1): primeiramente foi realizado *screening* antibacteriano de 96 extratos, 37 frações e um composto isolado (Tabela 2 a 4) pelo método de difusão em ágar, contra as bactérias Gram-negativas e Gram-positivas e *C. albicans* (Tabela 5 e 6). Os extratos que apresentaram atividades sobre algum micro-organismo foram submetidos aos testes de concentração inibitória mínima (CIMs). Paralelamente, foi testada a atividade antimalárica dos extratos.

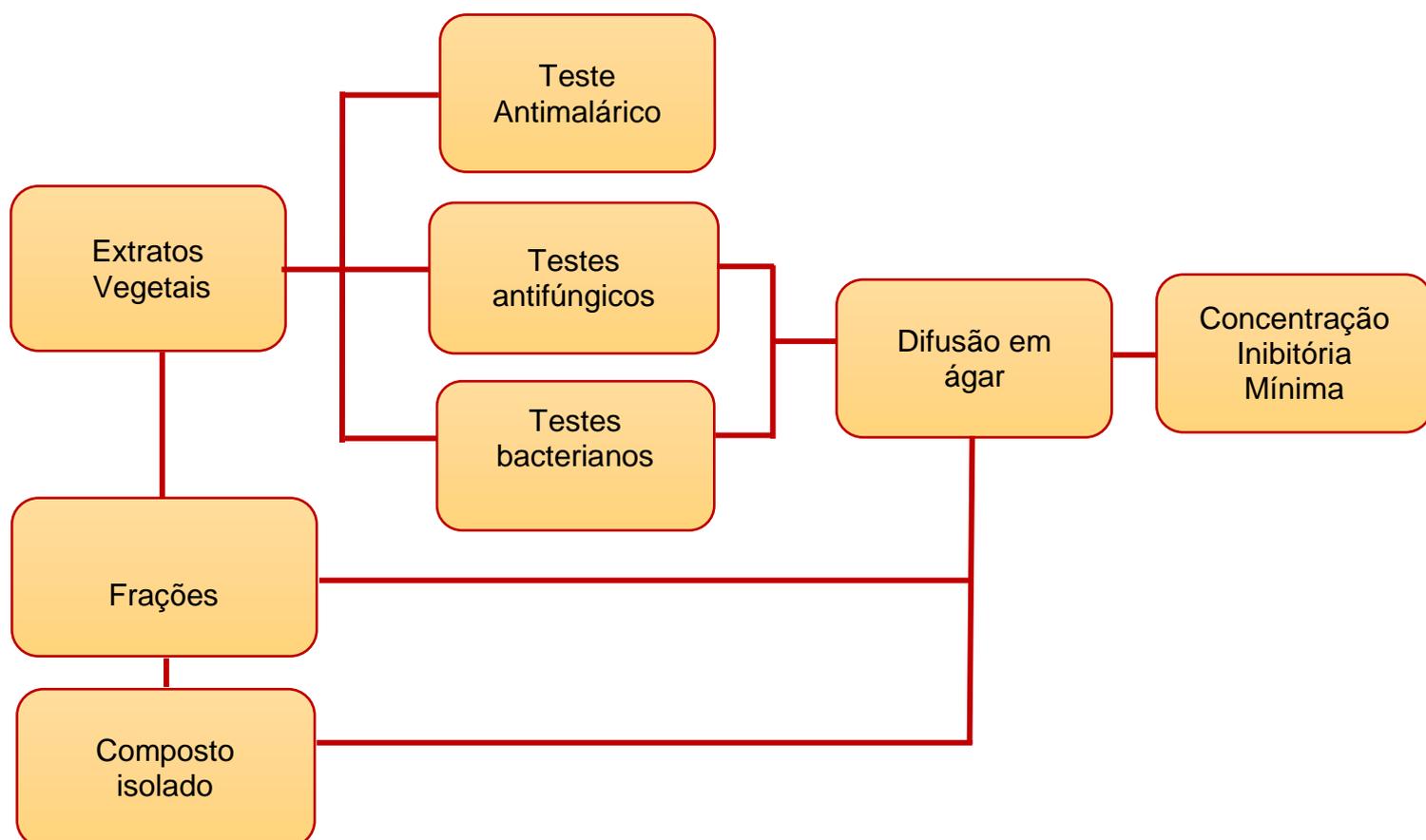


Figura 1. Organograma do Estudo da Atividade Antibacteriana, Antifúngico e Antimalárico.

FAMÍLIA	ESPÉCIES	NOME COMUM	QUANTIDADE EXTRATOS, FRAÇÕES E ISOLADOS ANALISADOS
Annonaceae	<i>Annona muricata</i> L.	Graviola	2 extratos
	<i>Rollinia mucosa</i>	Biriba	2 extratos
Arecaceae	<i>Euterpe precatória</i>	Açaí	6 extratos
	<i>Euterpe oleracea</i>	Açaí	2 extratos
	<i>Mauritia flexuosa</i> L.	Buriti	6 extratos
	<i>Astrocaryum aculeatum</i>	Tucumã Arara Tucumã Comum	3 extratos 3 extratos
Burseraceae	<i>Protium klugii</i>	_____	20 extratos
Caryocaceae	<i>Caryocar villosum</i>	Piquiá	6 extratos
Clusiaceae	<i>Platonia insignis</i>	Bacuri	3 extratos
	<i>Garcinia madruno</i>	Bacurizinho	4 extratos
Dioscoreaceae	<i>Dioscorea alata</i> L.	Cará roxo	4 extratos
Fabaceae	<i>Inga edulis</i> Mart.	Ingá	4 extratos
Lauraceae	<i>Aniba ferrea</i> Kubitzki	_____	2 extratos e 8 frações
	<i>Aniba guianensis</i> Aubl.	_____	2 extratos 8 frações
	<i>Aniba panurensis</i> (Meisn.) Mez	_____	2 extratos 9 frações 1 isolados
	<i>Aniba parviflora</i> (Meisn.) Mez	_____	1 extrato 4 frações
	<i>Licaria cannella angustata</i>	_____	2 extratos 2 frações
	<i>Licaria martiniana</i> (Mez)	_____	2 extratos 2 frações
	Kosterm <i>Ocotea leucoxyllum</i>	_____	2 extratos 4 frações
Lecythidaceae	<i>Bertholletia excelsa</i> H.B.K.	Castanha do Brasil	4 extratos
Malvaceae	<i>Theobroma grandiflorum</i> Schum.	Cupuaçu	6 extratos
	<i>Theobroma subincanum</i>	Cupuí	2 extratos
Oxalidaceae	<i>Averrhoa carambola</i> L.	Carambola	2 extratos
Sapindaceae	<i>Paullinia cupana</i> Kunth	Guaraná	2 extratos
Sapotaceae	<i>Pouteria caimito</i>	Abiu	2 extratos
Total	95 extratos + 37 frações + 1 isolado =		134 totais

Tabela 2: Distribuição dos extratos, frações e compostos estudados, de acordo com a famílias e espécies de plantas dos quais foram obtidos.

Os melhores resultados obtidos a partir da concentração inibitória mínima (CIMs), foram submetidos ao teste de curva de morte para determinar a efetividade de adições sucessivas das frações, bem como a quantificação de colônias e a determinação da atividade bactericida e/ou bacteriostática (Figura 2). E para avaliar a segurança do uso destas substancias bioativas, as amostras foram submetidas ao teste de citotoxicidade na célula MRC5 (Figura 2).

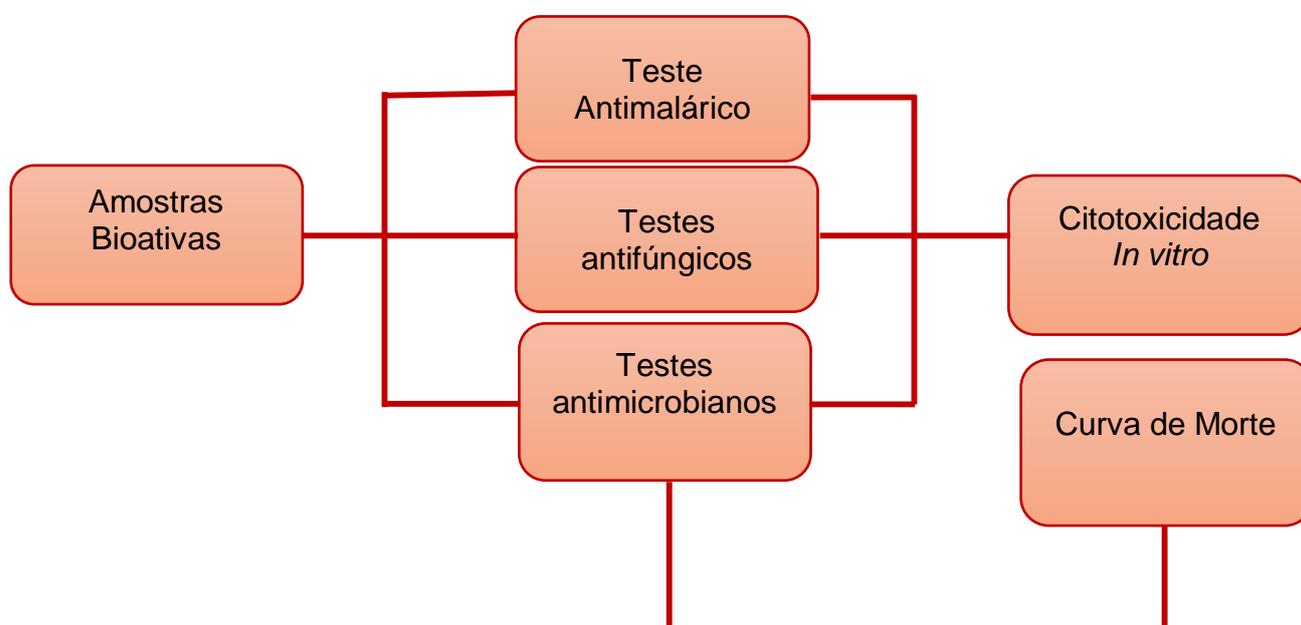


Figura 2. Organograma das amostras bioativas

4.1. Obtenção dos Extratos, frações e composto isolado

As **espécies** de plantas que foram investigadas nesse estudo pertencem a uma série de plantas selecionadas pelo grupo de pesquisa Q-BiomA (**Química de Biomoléculas da Amazônia**) que tem como objetivo de ampliar e aprofundar o conhecimento da biodiversidade da Amazônia e do seu potencial químico para subsidiar as políticas de geração de produtos de origem vegetal.

Os ensaios químicos dos extratos brutos, frações e substâncias isoladas foram realizados no laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), sob supervisão do Dr. Valdir Florêncio da Viegas Junior.

4.1.2. Descrição dos extratos

Para a realização deste trabalho foram usados noventa e seis (96) extratos, trinta e sete (37) frações e um (1) composto isolado, sendo estas amostras obtidas de vinte e cinco (25) espécies de plantas originárias da região Amazônica (Tabela 3 e 4).

Espécies	Parte da planta	Solvente
<i>Annona muricata</i> L. (Graviola)	Cascas	Etanólico (EtOH)
		Hidroalcólico (EtOH:70%)
<i>Averrhoa carambola</i> L. (Carambola)	Semente	Etanólico (EtOH)
		Hidroalcólico (EtOH:70%)
<i>Astrocaryum aculeatum</i> (Tucumã arara)		Etanólico (EtOH)
		Hidroalcólico (EtOH:70%)
	Cascas	Metanol (MeOH)
		Etanólico (EtOH)
Tucumã comum	Cascas	Hidroalcólico (EtOH:70%)
		Metanol (MeOH)
<i>Bertholletia excelsa</i> H.B.K. (Castanha do Brasil)	Cascas das sementes	Etanólico (EtOH)
		Hidroalcólico (EtOH:70%)
	Cascas	Etanólico (EtOH)
		Hidroalcólico (EtOH:70%)
<i>Caryocar villosum</i> (Piquiá)	Cascas	Etanólico (EtOH)
		Hidroalcólico (EtOH:70%)
	Polpas	Etanólico (EtOH)
		Hidroalcólico (EtOH:70%)
	Semente	Etanólico (EtOH)
	Hidroalcólico (EtOH:70%)	
<i>Dioscorea alata</i> L. (Cará roxo)	Polpas	Etanólico (EtOH)
		Hidroalcólico (EtOH:70%)
	Cascas	Etanólico (EtOH)
		Hidroalcólico (EtOH:70%)
<i>Euterpe Precatória</i> (açai)	Cascas (AM)	Etanólico (EtOH)
		Hidroalcólico (EtOH:70%)
	Semente (AM)	Etanólico (EtOH)
		Hidroalcólico (EtOH:70%)
	Semente (ACRE)	Etanólico (EtOH)
		Hidroalcólico (EtOH:70%)
<i>Euterpe oleracea</i> (açai)	Semente (PARÁ)	Etanólico (EtOH)
		Hidroalcólico (EtOH:70%)
<i>Garcinia madruno</i> (Bacurizinho)		Etanólico (EtOH)
	Cascas	Hidroalcólico (EtOH:70%)

	Semente	Etanólico (EtOH) Hidroalcólico (EtOH:70%)
<i>Inga edulis</i> Mart. (Ingá)	Semente	Etanólico (EtOH) Hidroalcólico (EtOH:70%)
	Cascas	Etanólico (EtOH) Hidroalcólico (EtOH:70%)
<i>Mauritia flexuosa</i> L. (Buriti)	Cascas das sementes	Etanólico (EtOH) Hidroalcólico (EtOH:70%)
	Cascas	Etanólico (EtOH) Hidroalcólico (EtOH:70%)
	Semente	Etanólico (EtOH) Hidroalcólico (EtOH:70%)
<i>Paullinia cupana</i> (Guaraná)	Cascas das sementes	Etanólico (EtOH) Hidroalcólico (EtOH:70%)
<i>Platonia insignis</i> (Bacuri)	Semente	Etanólico (EtOH) Hidroalcólico (EtOH:70%)
	Mesocarpo	Hidroalcólico (EtOH:70%)
<i>Protium klugii</i>		Acetato etila (AcOEt) Éter etílico (EtOEt) Hexano (HEX)
	Cascas	Metanol (MeOH)
		Acetato (AcOEt) Éter etílico (EtOEt) Hexano (HEX) Metanol (MeOH)
	Folhas	Metanol (MeOH)
		Acetato (AcOEt) Éter etílico (EtOEt) Hexano (HEX)
	Galhos Finos	Metanol (MeOH)
		Acetato (AcOEt) Éter etílico (EtOEt) Hexano (HEX)
	Galhos Grossos	Metanol (MeOH)
		Acetato (AcOEt) Éter etílico (EtOEt) Hexano (HEX) Metanol (MeOH)
	Raqui	
<i>Pouteria caimito</i> (Abiu)	Cascas	Etanólico (EtOH)

		Hidroalcólico (EtOH:70%)
<i>Rollinia mucosa</i> (Biriba)	Cascas	Etanólico (EtOH)
		Hidroalcólico (EtOH:70%)
		Etanólico (EtOH)
	Cascas das sementes	Hidroalcólico (EtOH:70%)
<i>Theobroma grandiflorum</i> (Cupuaçu)		Metanol (MeOH)
		Etanólico (EtOH)
	Cascas dos frutos	Hidroalcólico (EtOH:70%)
	Cascas	Etanólico (EtOH)
	Cascas	Etanólico (EtOH)
	Semente	Hidroalcólico (EtOH:70%)
<i>Theobroma subincanum</i> (Cupuí)		

Tabela 3: Descrições dos extratos em diferentes solventes de *Annona muricata* L., *Averrhoa carambola* L., *Astrocaryum aculeatum* B.K., *Caryocar villosum*, *Dioscorea alata* L., *Euterpe precatória*, *Euterpe oleracea*., *Inga edulis* Mart., *Mauritia flexuosa* L., *Paullinia cupana* *Platonia insignis*, *Pouteria caimito*, *Rollinia mucosa*, *Protium klugii*, *Theobroma grandiflorum*, *Theobroma subincanum*.

Família Lauraceae					
Espécies	Parte da planta	Extratos/Solvente	Frações/Solvente	Código	Isolados/solventes
<i>Aniba ferrea</i>	Folhas		Diclorometano (DCM)	Q-BiomA 2314	
		Etanólico (EtOH)	Diclorometano/alcaloídica (DCMa)	Q-BiomA 2317	
		(Q-bioma 2311)	Acetato de etila (AcOEt)	Q- BiomA 2529	_____
			Metanol (MeOH)	Q- BiomA 2530	
	Galhos		Diclorometano (DCM)	Q-BiomA 2323	
		Etanólico (EtOH)	Acetato de etila (AcOEt)	Q- BiomA 2531	
		(Q-bioma 2320)	Metanol (MeOH)	Q- BiomA 2532	_____
			Diclorometano/alcaloídica	Q-BiomA 2326	
<i>Aniba guianensis</i>	Folhas		Diclorometano (DCM)	Q-BiomA 2296	
		Etanólico (EtOH)	Diclorometano/alcaloídica (DCMa)	Q-BiomA 2299	
		(Q-bioma 2293)	Acetato de etila (AcOEt)	Q- BiomA 2535	_____
	Galhos		Metanol (MeOH)	Q- BiomA 2536	
			Diclorometano (DCM)	Q-BiomA 2305	
		Etanólico (EtOH)	Acetato de etila (AcOEt)	Q- BiomA 2537	

			Metanol (MeOH)	Q- BiomA 2538	_____
		Q-bioma 2302)	Diclorometano/alcaloídica (DCMa)	Q-BiomA 2308	
			Diclorometano (DCM)	Q-BiomA 2278	
	Folhas	Etanólico (EtOH)	Diclorometano/alcaloídica (DCMa)	Q-BiomA 2290	
		(Q-bioma 2275)	Acetato de etila (AcOEt)	Q- BiomA 2525	_____
			Metanol (MeOH)	Q- BiomA 2526	
<i>Aniba panurensis</i>			Diclorometano (DCM)	Q-BiomA 2287	Hexano/acetado etila (Q-BiomA 366a)
	Galhos	Etanólico (EtOH)	Acetato de etila (AcOEt)	Q- BiomA 2527	Hexano/acetado etila (Q-BiomA 366b)
		(Q-bioma 2284)	Metanol (MeOH)	Q- BiomA 2528	
			Diclorometano (DCM)	Q-BiomA 2377	
			Diclorometano/alcaloídica (DCMa)	Q-BiomA 2380	
<i>Aniba parviflora</i>	Galhos	Etanólico (EtOH)	Acetato de etila (AcOEt)	Q- BiomA 2533	_____
			Metanol (MeOH)	Q- BiomA 2534	
	Folhas	Etanólico (EtOH)	Diclorometano/alcaloídica (DCMa)	Q-BiomA 2353	_____
		(Q-bioma 2329)			
<i>Licaria cannella angustata</i>	Galhos	Etanólico (EtOH)	Diclorometano/alcaloídica (DCMa)	Q-BiomA2362	_____
		(Q-bioma 2338)			
	Folhas	Etanólico (EtOH)	Diclorometano/alcaloídica (DCMa)		_____
		(Q-bioma 2347)		Q-BiomA 2335	

<i>Licaria martiniana</i>	Galhos	Etanólico (EtOH)	Diclorometano/alcaloídica (DCMa)		
		(Q-bioma 2356)		Q-BiomA 2344	_____
<i>Ocotea leucoxyllum</i>	Folhas	Etanólico (EtOH)	Diclorometano/alcaloídica (DCMa)	Q-BiomA 2389	_____
		(Q-bioma 2383)	Diclorometano (DCM)	Q-BiomA 2398	
	Galhos	Etanólico (EtOH)	Diclorometano/alcaloídica (DCMa)	Q-BiomA 2386	_____
		(Q-bioma 2392)	Diclorometano (DCM)	Q-BiomA 2395	

Tabela 4: Descrições dos extratos, frações e composto isolado em diferentes solventes obtido a partir de partes de plantas das espécies *Aniba ferrea*, *Aniba guianensis*, *Aniba panurensis*, *Aniba parviflora*, *Licaria cannella angustata*, *Licaria martiniana*, *Ocotea leucoxyllum*.

4.2. Triagem de extratos, frações e composto isolado com atividade antimicrobiana

4.2.2. Micro-organismos

Os ensaios de atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos brutos, frações e substância isolada foram realizados no Instituto Leônidas e Maria Deane-ILMD/FIOCRUZ, e tais, substâncias foram testadas frente a 37 cepas bacterianas, sendo vinte quatro Gram-negativas e treze Gram-positivas (Tabela 5 e 6) e uma cepa fúngica. As cepas testadas são um conjunto de cepas padrão ATCC (*American Type Culture Collection*) recomendadas para testes de susceptibilidade aos Antimicrobianos (VANDEN & VLIETINCK, 1991; CLSI, 2009). E a Cepa fúngica foi obtida pela coleção de Fungos da Amazônia (CFAM), do Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD).

Bactérias Gram-Positivas	Cepas
<i>Bacillus liquiniformes</i>	UFAM
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> (CT)	AT CC 6051
<i>Enterococcus faecalis</i> (<i>Streptococcus faecalis</i>)	ATCC 4083
<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	ATCC 7953
<i>Listeria inócua</i>	ATCC 33090
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 15313
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 80958
<i>Staphylococcus</i> resistente a meticilina	MRSA
<i>Staphylococcus simulans</i>	ATCC27851
<i>Streptococcus agalactiae</i>	ATCC 13813
<i>Streptococcus galololyticus</i>	ATCC 9809
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	ATCC 903
<i>Streptococcus pyogenis</i>	ATCC 19615

Tabela 5: Descrições das treze (13) cepas de bactérias Gram-positivas selecionadas para avaliação da atividade antibacteriana

Bactéria Gram-Negativas	TCC
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC 19606-143
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 43864-576
<i>Escherichia coli</i> de aderência difusa (DAEC)	BUTANTÃ F1845
<i>Escherichia coli</i> enteroagregativa (EAEC)	CDC EDL- O42
<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica (EHEC)	CDC EDL-933-171
<i>Escherichia coli</i> enterotoxigênica ST (ETEC)	ST8
<i>Escherichia coli</i> enterotoxigênica ST (ETEC)	BUTANTÃ LT 2871
<i>Escherichia coli</i> enterotoxigênica típica (EPEC)	ATCC E234869
<i>Escherichia coli</i> -INV-enteroinvasiva (EIEC)	ATCC 1381
<i>Escherichia coli</i> não diarreiogênica	ATCC 10536
<i>Hafnia alvei</i>	ATCC 11601-120
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 4352-083
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 15290-095
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CDC EDL-1284
<i>Pseudomonas putida</i> (oralis)	ATCC 15175-113
<i>Salmonella arizonae</i>	UFAM
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Choleraesuis</i>	ATCC 10708
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Enterica</i> serovar typhimurium	ATCC 13311
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Enterica</i> serovar typhi	ATCC 6539
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 14756-131
<i>Shigella desenteriae</i>	ATCC 13313
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12022
<i>Vibrio cholerae</i>	ATCC 9458
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 9610
Fungo	
<i>Candida albicans</i>	CFAM

Tabela 6: Descrições das vinte e quatro (24) cepas de bactérias Gram-negativas selecionadas para avaliação da atividade antibacteriana.

4.2.3. Preparo das amostras analisadas

Para solubilização dos extratos, frações e isolados foi usado o solvente dimetilsulfóxido (DMSO) 10% e a concentração dos extratos e frações foi de 5 mg/mL e para a substância isolada 1 mg/mL.

4.2.4. Preparação das placas

Para a realização desta etapa, foram utilizados dois tipos de meio de cultura: um para recuperação e crescimento dos micro-organismos e outro, adicionado de ágar para a experimentação. Foram utilizados como meio de crescimento e meio de experimentação respectivamente: caldo Todd Hewitt (HIMEDIA) e o ágar Todd Hewitt (HIMEDIA), para as cepas de *Streptococcus*; caldo Infusão de Cérebro e Coração (caldo BHI - HIMEDIA) e ágar Müeler Hinton (AMH) (HIMEDIA) para as demais bactérias; caldo sabouraud dextrose (Dilco) e ágar Sabouraud Dextrose (Dilco) para a cepa fúngica. Após o preparo prévio, 3 mL dos meios líquidos (de crescimento) foram distribuídos em tubos de ensaio e os meios sólidos foram autoclavados em balões ou Erlenmeyer em temperatura de 120°C. Após esterilização do AMH, TODD e SAB os meios foram distribuídos em placas de petri estéreis de 90 x 15 mm em duas camadas: camada inferior contendo 10 mL do meio de cultura sólido. Após a solidificação foi adicionada uma sobrecamada de 15 mL do respectivo meio de cultura. As placas foram mantidas em temperatura ambiente até solidificar. Para a verificação da pureza das culturas de *Streptococcus*, a camada superior do meio de cultura foi feita com o ágar Todd Hewitt suplementado com 1,5% de sangue de carneiro. Após decorrido o período de tempo de solidificação foram confeccionados os orifícios cilíndricos de aproximadamente 6mm de diâmetro de maneira equidistante para evitar zonas de inibição convergentes.

4.2.5. Padronização e Preparação do inóculo

Para esta etapa padronizou-se a quantidade do inóculo a ser utilizada, a fim de assegurar a reprodutibilidade dos ensaios. Para a obtenção dos inóculos, as cepas foram repicadas em meios apropriados (AHM, SAB e ágar TODD). Assim, selecionou-se para a inoculação de 3 a 5 colônias isoladas com o auxílio de uma alça de platina. Para as quatro cepas de *Streptococcus* utilizou-se 3 mL de caldo Todd e

suplementado com 1,5% de sangue de carneiro. As demais cepas foram cultivadas em 3mL de caldo nutritivo BHI. Para que ocorresse um crescimento uniforme, as cepas foram incubadas em *shaker* a 150 rpm a 37°C por um período de 18 a 24 horas conforme preconiza o CLSI, (2009). A partir das culturas obtidas, o inóculo bacteriano foi preparado a partir da transferência de uma alíquota de 50 a 100 µL da cultura para tubos contendo 3 mL de meio de cultura estéril, volume que variou para atender a turvação padrão de 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL).

4.3. Atividade antibacteriana (ab) e atividade antifúngica (af) por teste de difusão em ágar pela técnica de difusão em ágar.

É um método utilizado para determinação da suscetibilidade de um micro-organismo em contato com uma substância, esse método foi desenvolvido em meados dos anos 60 por Kirby e Bauer (BAUER et al, 1966; KONEMAN et al, 1989; KRUGER & MOURA, 2003).

O processo de estriamento das placas iniciou-se logo após o preparo dos inóculos. Para isso, foi inserido um swab estéril em cada um dos diferentes tubos contendo os diferentes inóculos. Após tal procedimento, os micro-organismos alvos foram semeados em toda a superfície da placa em três direções, girando a placa aproximadamente 60° com o objetivo assegurar distribuição uniforme do inóculo. Por último, o swab foi passado na margem da placa. Para que o inóculo fosse completamente absorvido pelo meio, deixou-se as placas entreabertas por 5 a 15 minutos à temperatura ambiente. Posteriormente, foram adicionados nos poços 40 µL das amostras na concentração de 5mg/mL para os extratos e frações, 1mg/mL para o composto isolado, 30ug/mL para o controle positivo Imipenem/Cilastatina (TIENAM) e como controle negativo aplicou-se o mesmo volume do solvente utilizado. O TIENAM foi utilizado tanto para as bactérias Gram-Positivas quanto para as Gram-Negativas e fluconazol (FLU) utilizado para *C. albicans*. Após a aplicações das soluções, as placas foram incubadas em estufa a 37 ° C por um período de 18 a 24 horas. Após o período de incubação, identificou-se a formação de halos das amostras bioativas.

Para melhor visualização dos halos de inibição foi preparado o revelador cloreto de trifetil tetrazólio (CTT) a 0,01% e a crescido 0,1% ágar bacteriológico. Após o período de incubação das placas, foi adicionado a cada uma, 10 mL desse corante seguido por uma incubação a 37 °C por 30 minutos. Ao fim deste período, os halos de inibição foram visualizados por meio da conversão da coloração na sobrecamada

onde houve crescimento bacteriano. Os diâmetros dos halos de inibição foram medidos com auxílio de uma régua milimetrada (ALMEIDA, 2007).

Após os resultados dos testes de difusão em ágar, apenas as amostras que apresentaram inibição igual ou acima de 15mm foram submetidas aos testes de concentração inibitória mínima (MICs).

4.4. Método de diluição em microplaca com determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e determinação da concentração fungicida mínima (CFM)

A preparação do inóculo desta etapa foi conduzida como supra-citado, para a obtenção de concentração microbiana compatível com a escala 0,5 da escala de McFarland. Este método foi validado em 1992 e esta técnica é empregada em placas de 96 poços com transferência seriada das amostras, promovendo uma diluição de base logarítmica 2 (KOLODZIEJ et al, 1999; PALOMINO et al, 2002; CLSI, 2009).

Para esse teste foram utilizadas as amostras que apresentaram resultado positivo para o teste descrito anteriormente. Visando obter a concentração compatível com a escala 0,5 de McFarland, os inóculos foram preparados de forma similar ao descrito anteriormente. Em seguida, foram acrescentados 100 µL de meio estéril em todos os 96 orifícios (8 linhas e 12 colunas). Nos orifícios da linha 1 foram acrescentados mais 60 µL do meio estéril e 40 µL da amostra, completando um volume de 200 µL. O conteúdo dos orifícios da linha 1 foi homogeneizado e 100 µL foram transferidos aos orifícios da linha 2, em suas respectivas colunas, sendo novamente homogeneizados. Assim, 100 µL foram transferidos sucessivamente até os orifícios da linha 9 e ao final neste orifício, que apresentava 200µL de volume final, retirou-se e descartou-se 100µL para que todos os orifícios ficassem com mesmo volume final. Os orifícios das linhas 1 a 9 foram completados com mais 60 µL do meio estéril, 20 µL de resazurina 0,01% (filtrada, como indicador colorimétrico de oxi-redução para caracterizar a viabilidade celular) e 20 µL de inóculo a 0,5 da escala McFarland, sendo que nas linhas 1 e 9 houve uma concentração que variou de 1000 a 1,95 µg das amostras.

Nas colunas 10 a 12, colocou-se os controles: Sendo que no controle de crescimento bacteriano foi acrescentado 20 µL do meio estéril, 40 µL de bactéria e 20 µL de resazurina 0,01% filtrada, e no controle do reagente foi acrescentado 20 µL de meio estéril, 40 µL das amostras do reagente e 20 µL de resazurina e mais 20 µL de inóculo.

Os controles das drogas (TIENAM e FLU) foram feitos conforme supracitado nas amostras testes.

Após, as placas foram incubadas a 37°C, por um período de 72 horas, sendo que as leituras das placas eram feitas de 12 em 12 horas, para verificar em qual intervalo de tempo ocorreria a mudança no indicador colorimétrico. A reação foi considerada negativa onde houve a conversão do corante azul para rosa (ou incolor) e positiva onde os poços permaneceram com coloração azul.

5.5. Curva de morte

5.2.1 Testes de diluição em caldo

Esta técnica quantitativa é utilizada para monitorar o crescimento bacteriano através de Densimetria Óptica (D.O) quando na presença e ausência de determinado agente antimicrobiano STROHL et al, 2004.

Para este foi usado somente as frações que mostraram atividades nas concentrações abaixo de 62,5 µg/mL frente as cepas bacterianas. Os testes foram realizados sobre intervalos de concentrações dependentes das CIMs encontradas, variando de 62,5 a 15,5 x CIMS, segundo (STROHL et al, 2004).

O crescimento bacteriano foi como supracitado acima. Decorrido o período de 18 a 24 horas, preparou-se tubos de ensaio contendo 3 mL de caldo de soja, e foram adicionadas suspensões bacterianas de $0,5 \times 10^8$ ufc/mL, esse ajuste foi feito por meio do espectrofotômetro, o comprimento de onda usado foi de 600 nm e a calibração da transmitância foi em 100%. Assim, todas as suspensões bacterianas foram ajustadas na mesma transmitância. Nestes tubos foram adicionados 40 µL das três soluções de frações de diclorometano (62,5, 31,25 e 15,5 µg/mL), os tubos contendo com as concentrações finais, foram centrifugados em temperatura ambiente (23 ° C) durante 15 minutos a 12.000 rpm para a retirada de material precipitado que poderia vir a interferir na análise de densidade óptica. Em outros tubos, com a mesma concentração bacteriana, foi feito controle positivo e controle negativo. O controle positivo consiste apenas de caldo de soja e suspensão bacteriana; o controle negativo contem caldo de soja, suspensão bacteriana e 40 µL de DMSO. Todos os testes foram feitos em duplicata. Os tubos foram incubados a 37° C em agitação constante a 100 rpm. As leituras foram feitas em intervalos de 0, 6,12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60, 66, 72 e 78 horas. Amostras denominadas branco foram preparadas para cada concentração de extrato analisada, bem como para o controle positivo e negativo, para que apenas as células bacterianas presentes fossem quantificadas.

5.2.2 Teste de Dosagem 6/6 Horas com Quantificação de Unidades Formadoras de Colônias (UFC)

O teste de dosagem é uma metodologia que se propõem a avaliar a atividade microbiana e microbiostática, e verificar a eficácia do extrato quando aplicado em doses subsequentes através da quantificação de unidades formadoras de colônia, quando plaqueado em ágar seletivo (CIM), STROHL et al, 2004; ROVER, 2006).

O crescimento bacteriano e concentração das frações foram as mesmas utilizada no teste acima. Em seguida preparou-se duas suspensões bacterianas contendo 3 mL de BHI (fração 1X, fração +) , posteriormente foram adicionados 40 µL das frações nas três concentrações utilizadas (62,5, 31,25 e 15,5 µg/mL), após os tubos foram colocados em estufa a 37° C sob agitação constante (100 rpm). Decorrido o período de 6 horas uma alíquota de 100ul foram retiradas dos tubos, e com esta alíquota foram feitas diluições seriadas até atingirem uma diluição de 1/10.000. E destas diluições, 100ul foi semeado em placa de AMH e incubadas a 37 °C por 24 horas. Após este período foi realizada a contagem de unidades formadoras de colônias bacterianas presentes nas placas.

Os tubos cuja as alíquotas foram retiradas, foram recolocadas em agitação constante por um período de mais 6 horas. No entanto, nos tubos de testes foram adicionados uma dosagem de 40 µL da solução do extrato, sendo que no outro tubo (Fração 1X) não foram acrescentados, permanecendo-o apenas com a dose inicial, para verificar se existia a necessidade de adição de mais uma dose subsequente. Após o termino de mais 6 horas, somando um total de 12 horas, mais um plaqueamento foi repetido e novamente a placas foram incubadas a 37 °C por mais 6 horas, somando um total de 18 horas e foi feito a contagem de UFC, e esses processos foram repetidos sucessivamente até completar 78 horas. Após esse período foram quantificadas as unidades formadoras de colônias bacterianas presente nas placas.

A contagem das unidades formadoras de colônias baseia-se no princípio de que cada célula microbiana presente em uma amostra irá formar uma colônia, quando ressuspendida em meio de cultura sólido diferencial. Como as células microbianas muitas vezes ocorrem em agrupamentos, não é possível contabilizar em números verdadeiros, sendo assim, a relação correta para quantificar é feita entre o número de

colônias e o número de UFC, que pode ser tanto de células individuais como agrupamentos característicos de certos micro-organismos (SILVA, 1997).

Para quantificação das UFC nas placas incubadas por 24 horas foi utilizada uma lupa acoplada em um contador de colônias, seguindo os seguintes cálculos:

- ✓ Contar os números de UFC por placas;
- ✓ Multiplicar o valor das UFCs encontradas por 10 para obtenção de UFCs/mL
- ✓ Dividir esse valor pela diluição utilizada (10^{-4})

6.6. Teste antimaláricos

6.2.1 Cepa de *Plasmodium falciparum*

A atividade antimalárica das drogas foi determinada contra a cepa 3D7gfp de *P. falciparum*. Essa cepa foi gentilmente cedida por Dr. Henrique Silveira do Instituto de Higiene e Medicina Tropical (Lisboa, Portugal). A cepa foi mantida em cápsula de nitrogênio até o momento da experimentação.

Os testes antimaláricos foram realizados no Laboratório de Cultivo de Malária da Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Viera Dourado – FMT/HVD, em parceria com o laboratório de Biodiversidade do Instituto Leônidas e Maria Deane–ILMD/Fiocruz Amazônia, sob supervisão do Dr. Paulo Afonso Nogueira e a Dra. Stefanie Costa Pinto Lopes.

6.2.2 Preparo das soluções dos extratos analisados

Inicialmente preparou-se uma solução estoque no qual os extratos foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) 100% na concentração inicial 10mg/mL, para melhor solubilização as mesmas foram vortexzadas. Em seguida preparou-se as concentrações a serem avaliadas.

6.2.3 Cultura de *Plasmodium falciparum* e preparação do meio de cultura

Para o cultivo da cepa 3D7gfp, foi utilizado o meio de cultura RPMI 1640 (Sigma), suplementado com 25 mM de HEPES, hipoxantina a 50 mg/L, 2g/L glicose, 50 mg/L de gentamicina (LJUNGSTRÖM et al, 2004). Ao meio RPMI foi adicionado 10% de soro humano AB+ e eritrócitos humanos normais. Em seguida incubou-se a cultura do parasita por 72 horas em câmara de hipóxia a 37 °C em atmosfera contendo mistura gasosa 5% O₂, 5% CO₂ e 90% N₂ (TRAGER & JENSEN, 1976).

6.2.4 Avaliação da Atividade Antimalárica (*in vitro*)

A fim de assegurar a reprodutibilidade do ensaio padronizou-se a parasitemia a 1% e hematócrito a 2% final, e este foi utilizado para todos os testes antimaláricos. Os ensaios foram feitos em placas de 96 poços de fundo chato, com um volume final de 100 µL.

Os testes antimaláricos foram realizados em duas etapas: inicialmente foi realizado um *screening* dos noventa e seis extratos, em duas concentrações iniciais, 50 e 12,5 µg/mL. Os extratos que apresentaram atividades nessas concentrações foram submetidos as diluições seriadas, para verificar qual a concentração inibitória (CI⁵⁰) de 50% desses extratos frente a cepa 3D7gfp. Para a diluição seriada, foram distribuídos 50 µL de RPMI completo em todos os orifícios. Em seguida foram acrescentados 50 µL de extrato nos primeiros orifícios, e o conteúdo dos primeiros orifícios foram homogeneizados; 50 µL foram então retirados transferidos aos orifícios da linha 2. Assim 50 µL foram transferidos sucessivamente até os orifícios da linha 8 e ao final, nos conteúdos destas últimas linhas, 50 µL foram retirados e descartados. Desta forma testamos concentrações de 50 µg/mL a 0.39 µg/mL, todas em triplicata. Após foi adicionado 50 µL de suspensão de eritrócitos infectados por *P. falciparum* (2% hematócrito final e 1% parasitemia) em meio completo. O controle positivo utilizado foi DMSO 0,5%, visto que esse foi o diluente utilizado nos extratos. Utilizamos eritrócitos não parasitados sem droga como controle negativo, para determinação de autofluorescência e assim definição de *gates* no citômetro. O crescimento parasitário foi comparado com o controle positivo (ausência de droga), representando 100% de crescimento parasitário. A droga controle utilizada foi a cloroquina.

Após 72 horas de incubação a 37°C em atmosfera contendo 5% O₂, 5% CO₂ e 90% N₂, procedeu-se a leitura em citômetro de fluxo para determinar a parasitemia.

6.2.5 Verificação da inibição de crescimento por citometria de fluxo

As leituras foram realizadas na Subunidade Citometria de Fluxo (RPT08J) - FIOCRUZ – Amazônia (ILMD), o citometro de fluxo, FACSCanto II (BD) é um equipamento que detecta através da refração de luz o tamanho e a granulosidade celular. A análise das amostras foi realizada através do software Getting Started with BD FACSDiva™ no qual mediante a detecção da fluorescência produzida juntamente com o ângulo de refração do laser o computador poderá selecionar a área corresponde aos eritrócitos. Como o parasita expressa constitutivamente a proteína verde fluorescente (gfp) a determinação da parasitemia se deu através da quantificação do número de células fluorescentes em 50 mil células totais.

Após foi calculada a inibição do crescimento parasitário no software GraphPad GraphPad Prism 6V de acordo com a fórmula: % Inibição = $100 - \left(\frac{\% \text{Fluorescência amostra} - \% \text{Fluorescência Eritrócitos sadios}}{\% \text{Fluorescência Controle} - \% \text{Fluorescência Eritrócitos sadios}} \right) \times 100$. A IC₅₀ foi calculada através de um gráfico do Log da dose *versus* inibição (expresso em porcentagem em relação ao controle).

7.7 Ensaio de citotoxicidade *in vitro*

Os ensaios de citotoxicidade foram realizados na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas, sob supervisão da do Dr. Emerson Silva Lima e da aluna de doutorado Patrícia Danielle Oliveira de Almeida. O teste de citotoxicidade foi avaliado pelo método de alamar blue segundo (NAKAYAMA et al, 1997). E essa cepa foi gentilmente cedido por Dr. Emerson Silva Lima da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas.

Neste estudo foi utilizada a linhagem de fibroblasto humano (MRC5). Essa linhagem teve as condições de cultivo adaptadas para o Laboratório de Atividade Biológica II (BIOPHAR II) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). As células foram cultivadas em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS), e antibióticos penicilina 50 µg/mL e estreptomicina 50µg/mL (Gibco).

As células foram plaqueadas na concentração de 1×10^4 células/poço em placas de 96 poços. Após 24 horas de incubação e aderência das células em estufa a 5% de CO₂ a 37 °C, as mesmas foram tratadas com os extratos, frações e o composto isolado, solubilizados em DMSO puro estéril e testadas na concentração de 50 µg/mL, para um *screening* inicial. Como controle positivo de morte, foi avaliada a citotoxicidade da Doxorubicina (5 µg/mL) e como controle negativo foi utilizado somente meio de cultura. Após esse procedimento as amostras voltaram à estufa por 72 horas, nas mesmas condições supracitadas.

Após o período de tratamento foi adicionado 10 µL de resazurina 0,4% (diluída 1:20) nos 96 poços. Posteriormente ao tempo padronizado de metabolização da resazurina, que compreendeu o período de 2 horas, foi realizada a leitura da fluorescência. A viabilidade celular foi calculada conforme a fórmula abaixo, onde Ft= (fluorescência da célula + meio + substância + resazurina) e ΔFb= (fluorescência da célula + meio + resazurina).

$$\% \text{ viabilidade} = \frac{\text{Ft} \times 100}{\text{Fb}}$$

8.8 Análises estatísticas

Os resultados dos testes antimalárico, foram plotados no programa estatístico GraphPad Prism 6V, sendo o mesmo utilizados para a confecção dos gráficos do teste de curva de morte e citotoxicidade. E foi utilizado Kruskal Wallis para comparação entre os grupos controle e tratado quanto a parasitemia e testes de citotoxicidade. Para o cálculo do IC₅₀ foi feita uma curva de regressão não linear com os dados das concentrações expressos em escala logarítmica

5. RESULTADOS

5.1 Atividade antibacteriana e antifúngica pelo método de difusão em ágar

Neste trabalho foram estudados 96 extratos, trinta e sete frações e um composto isolado, provenientes de 25 espécies de plantas (Tabela 3 e 4). Trinta e sete cepas de bactérias foram utilizadas nos ensaios, sendo 13 bactérias Gram-positivas e 24 Gram-negativas, e um fungo da espécie *Candida albicans* (Tabela 5 e 6). Esses patógenos foram escolhidos por serem recomendados como microorganismos padrões para testes de suscetibilidade antimicrobiana, pois são responsáveis por várias formas de infecções em humanos e por adquirirem, com mais frequência, resistência aos antimicrobianos disponíveis.

Como não existe um padrão sobre o nível aceitável para determinar a eficácia de extratos de plantas utilizou-se como critério para a determinação da atividade antimicrobiana a presença de halo de inibição igual ou superior a dez 10 milímetros (AL-HEBSHI et al, 2006; OSTROSKY et al, 2008) (Tabela 7). Das vinte e cinco espécies de plantas submetidas a varredura preliminar pelo método de difusão em ágar pela técnica de poços, apenas 11 espécies apresentaram atividades antibacterianas, as quais seguem: *Caryocar villosum*, *Euterpe precatória*, *Inga edulis*, *Garcinia madruno*, *Platonia insignis*, *Protium klugii*, *A. Panurensis*, *A. ferrea*, *A. parviflora*, *O. leucoxyton* e *A. guianensis*, e destas, 7 apresentaram atividades contra *C. albicans*: *C. villosum*, *E. Precatória*, *Inga edulis*, *G. madruno*, *O. leucoxyton*, *L. martiniana*, *L. cannella* e *angustata*. Das 37 bactérias estudadas, 8 Gram-positivas e 8 Gram-negativas foram sensíveis a 21 extratos, 12 frações e 1 isolados.

Diâmetro (mm)	Resultado
Acima 20	Boa atividade
Entre 15 a 20 mm	Moderada atividade
Entre 10 a 15mm	Pouco atividade
Ausência do halo	Inativo

Tabela 7: Critério de avaliação da atividade antimicrobiana, pelo método de difusão em ágar

O controle de atividade antimicrobiana proporcionou a formação de halo de inibição em todos os ensaios bacterianos, conforme o esperado. O Imipenem associado à cilastatina é um quimioterápico que, juntamente com o meropenem,

representam os β -lactâmicos com maior espectro e potência antimicrobiana, e são os únicos carbapenêmicos disponíveis para o uso clínico no Brasil (GALES et al, 2002). Já o reagente utilizado para solubilizar as amostras (DMSO 10%) não apresentou nenhuma ação antibacteriana frente aos micro-organismos testes. Com relação a droga controle para *Cândida* (fluconazol), a mesma não proporcionou a formação de halo de inibição, mesmo sendo um quimioterápico usado como referência para avaliar a sensibilidade de *C. albicans* (NENOFF et al, 1999; PFALLER et al, 2012a).

Na análise preliminar da atividade antimicrobiana dos seis extratos de *C. villosum* (Piquiá) testados, foram observadas atividades dos seis extratos sobre quatorze bactérias e *C. albicans*, sendo que os extratos de cascas (EtOH) foram ativos contra quatro bactérias Gram-positivas: *B. liquiniformes*, *S. aureus* resistente a meticilina, *S. simulans*, *S. aureus* e quatro bactérias Gram-Negativas: *E. coli* (ATCC 10536), *S. arizonae*, *S. choleraesuis* e *S. flexneri*. Os extratos das cascas (EtOH:70%) foram ativos contra cinco bactérias Gram-positivas: *S. agalactiae*, *S. pyogenes*, *S. aureus* resistente a meticilina, *S. simulans* e *S. aureus* e seis bactérias Gram-Negativas: *Y. enterocolítica*, *S. arizonae*, *S. choleraesuis*, *S. typhi*, *S. flexneri* e *S. desenteriae* e contra fungo o *C. albicans*. Os halos de inibição frente as bactérias variaram entre 10 e 27 mm e contra *C. albicans* foi de 15mm como mostra a (Tabela 8). Os extratos das polpas de *Caryocar villosum* (piquiá) (EtOH) apresentaram atividades contra quatro bactérias Gram-positivas: *S. pyogenes*, *S. aureus* resistente a meticilina, *S. simulans* e *S. aureus* e três bactérias Gram-Negativas: *S. arizonae*, *S. choleraesuis* e *S. flexneri*. Os extratos das polpas (EtOH:70%) foram ativos contra duas bactérias Gram-positivas: *B. liquiniformes* e *B. subtilis* e três bactérias Gram-negativas *Y. enterocolítica*, *S. choleraesuis* e *S. flexneri*, e os halos de inibição dos extratos das polpas variaram de 13 a 30 mm (Tabela 8). Os extratos das sementes de *Caryocar villosum* (piquiá) (EtOH) apresentaram pequena atividade contra uma bactéria Gram-positiva: *S. pyogenes* e duas bactérias Gram-negativas: *S. arizonae* e *S. choleraesuis*. Os extratos das sementes (EtOH:70%), apresentaram melhores resultados, sendo duas bactérias Gram-positivas: *S. agalactiae* e *S. pyogenes* e três bactérias Gram-negativas: *S. arizonae* e *S. choleraesuis* e *S. flexneri*, e os halos de inibição para os extratos das sementes foram de 10 a 25 mm, como demonstrado na (Tabela 8).

<i>Caryocar villosum</i> -PIQUIÁ															
Parte da plante (Solvente)	Gram-positivas							Gram-negativas							Fungo
	<i>Bacillus</i>		<i>Streptococcus</i>			<i>Staphylococcus</i>		<i>Salmonella</i>				<i>Shigella</i>			
	<i>liquiformes</i>	<i>subtilis</i>	<i>agalactiae</i>	<i>pyogenis</i>	MRSA	<i>simulans</i>	<i>aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>Y. enterocolítica</i>	<i>arizonae</i>	<i>choleraesuis</i>	<i>typhi</i>	<i>flexneri</i>	<i>desenteriae</i>	<i>C. albicans</i>
Cascas (EtOH)	20	-	-	-	15	19	15	23	-	20	20	-	15	-	-
(EtOH:70%)	-	-	25	25	16	15	15	-	22	20	27	23	15	15	15
Polpas (EtOH)	-	-	-	25	13	15	15	-	-	20	27	-	19	-	-
(EtOH:70%)	25	30	-	-	-	-	-	-	24	-	25	-	20	-	-
Semente (EtOH)	-	-	-	10	-	-	-	-	-	11	15	-	-	-	-
(EtOH:70%)	-	-	20	20	-	-	-	-	-	11	25	-	-	-	-
TIENAM e FLU	30	39	25	30	30	30	28	30	30	30	30	30	30	30	0
DMSO 1%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 8: Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana dos extratos brutos de *Caryocar villosum*. Concentração inicial de (5 mg/mL), resultado do halo de inibição milímetro (mm): Droga padrão de bactéria: Imipenem/Cilastatina sódica (TIENAM), droga padrão de *C. albicans*: Fluconazol (FLU).

Na avaliação preliminar da atividade antimicrobiana dos 6 extratos de *E. precatória* (Açaí) testados, observou-se atividade apenas dos extratos das sementes sobre 6 bactérias. O extrato de sementes (EtOH) apresentou uma pequena atividade contra duas bactérias Gram-positivas: *S. simulans* e *S. aureus* e uma bactéria Gram-Negativas *S. arizonae* e contra o fungo *C. albicans*. O extrato das sementes (EtOH:70%) também apresentaram uma pequena atividade contra 2 bactérias Gram-positivas: *B. subtilis* e *S. aureus*, contra a Gram-Negativa *E. coli* (ATCC 10536) apresentou atividade moderada, e os halos de inibição dos extratos de *E. precatória* (Açaí) variaram de 10 a 19 mm (Tabela 9). Também foi observada pequena atividade do extrato etanólico das sementes de *Euterpe oleracea* frente aos micro-organismos *S. simulans* e *S. aureus* e *C. albicans*, e os halos variaram de 10 a 15 mm (Tabela 9)

Na verificação preliminar dos quatro extratos de *I. edulis* (ingá), a atividade antimicrobiana foi observada apenas nos extratos das sementes sobre três bactérias. O extrato das sementes (EtOH) foi ativo apenas contra *C. albicans*. O extrato das sementes (EtOH:70%) apresentou uma pequena atividade contra duas bactérias Gram-positivas: *B. subtilis* e *S. simulans*, entretanto contra a bactéria Gram-Negativas *E. coli* (ATCC 10536) apresentou moderada atividade, e os halos de inibição de *I. edulis*, variaram de 10 a 18 mm para as bactérias e 20 mm para *C. albicans* (Tabela 9).

Na verificação preliminar dos três extratos de *G. madruno* (Bacurizinho) 3 extratos tiveram atividade antimicrobiana sobre 6 bactérias. O extrato das cascas (EtOH) foi ativo sobre quatro bactérias Gram-positivas: *B. liquiniformes*, *B. subtilis*, *S. simulans* e *S. aureus*, contra a Gram-negativa *E. coli* (ATCC 10536) e contra o fungo *C. albicans*. O extrato das cascas (EtOH:70%), apresentou uma pequena atividade contra *S. aureus* e o extrato das sementes (EtOH:70%) também apresentou uma pequena atividade contra *Y. enterocolítica*, entretanto contra *C. albicans* apresentou uma boa atividade, e os halos de inibição de *G. madruno*, variaram de 11 a 20 mm para as bactérias e 21 mm para *C. albicans* (Tabela 9).

Na avaliação preliminar da atividade antimicrobiana dos 3 extratos de *P. insignis* (Bacuri) testados, foram observadas atividades apenas dos extratos das sementes sobre duas bactérias e o extrato de mesocarpo frente a *C. albicans* que teve o halo de inibição de 15 mm. O extrato das sementes (EtOH: 70%) apresentou uma

pequena atividade contra *B. liquiniformes*, entretanto contra *B. subtilis* apresentou uma boa atividade com halo de 25 mm (Tabela 9).

Quanto à atividade antimicrobiana dos vinte extratos de *P. klugii* testados, seis extratos foram ativos contra três bactérias. Os extratos de folhas (MeOH) e Galhos finos (EtOEt), apresentaram uma pequena atividade contra *S. choleraesuis*. Já os extratos de Galhos grossos (EtOEt), Cascas (HEX), Cascas (EtOEt) e Cascas (AcOEt), também apresentaram atividades moderadas contra MRSA e *S. aureus*, e todos os halos de inibição de *P. klugii*, foram de 15 mm (Tabela 9)

Espécie	Parte da planta (Solvente)	Gram-positivas					Gram-negativas				Fungo
		<i>Bacillus</i>		<i>Staphylococcus</i>			<i>Salmonella</i>				<i>C. Albicans</i>
		<i>liquiniiformes</i>	<i>subtilis</i>	MRSA	<i>simulans</i>	<i>aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>arizonae</i>	<i>choleraesuis</i>	
<i>E. precatória</i>	Semente (EtOH)	-	-	-	10	10	-	-	11	-	16
	(EtOH:70%)	-	12	-	-	10	-	-	-	19	-
<i>E. oleracea</i>	Semente (EtOH)	-	-	-	10	10	-	-	-	-	15
<i>I. edulis</i>	Semente (EtOH)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20
	Cascas (EtOH:70%)	-	10	-	13	-	18	-	-	-	-
<i>G.madruno</i>	Cascas (EtOH)	11	15	-	20	16	15	-	-	-	21
	(EtOH:70%)	-	-	-	-	15	-	-	-	-	-
	Semente (EtOH:70%)	-	-	-	-	-	-	12	-	-	21
<i>P.insignis</i>	Semente (EtOH:70%)	12	25	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mesocarpo (EtOH)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15
<i>P. klugii</i>	Folhas (MeOH)	-	-	-	-	-	-	-	-	15	-
	Galhos finos (EtOEt)	-	-	-	-	-	-	-	-	15	-
	Galhos grossos (EtOEt)	-	-	13	-	15	-	-	-	-	-
	Cascas (HEX)	-	-	15	-	15	-	-	-	-	-
	Cascas (EtOEt)	-	-	15	-	15	-	-	-	-	-
	Cascas (AcOEt)	-	-	15	-	15	-	-	-	-	-
	<i>TIENAM e FLU</i>	30	39	30	30	28	30	30	30	30	0

Tabela 9: Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana dos extratos brutos de *Euterpe precatória*, *Platonia insignis*, *Inga edulis*, *Protium klugii*. Concentração inicial de (5 mg/mL), resultado do halo de inibição milímetro (mm): Droga padrão de bactéria: Imipenem/Cilastatina sódica (TIENAM), droga padrão de *Candida albicans*: Fluconazol (FLU).

Na avaliação preliminar das atividades antimicrobianas das 7 espécies pertencentes aos três gêneros da família Lauraceae, a espécie que apresentou melhores resultados foi *A. panurensis*. Os extratos folhas e galhos (EtOH) apresentaram bons resultados contra cinco bactérias Gram-positivas: *B. subtilis*, MRSA, *S. simulans* e *S. aureus* e *S. agalactiae* e uma bactéria Gram-negativa: *A. baumannii*. O tamanho dos halos para o extrato etanólico oriundo das folhas variou de 15 a 25 mm, e dos galhos variou de 15 a 20 mm, para as mesmas cepas (Tabela 10).

Quando avaliadas as frações ou partições nos diferentes solventes de *A. panurensis*, as frações de folhas e galhos (DCM 2), também apresentaram halos que variaram de 15 a 20 mm frente ao *B. subtilis*, *S. aureus*, MRSA, *S. simulans* e *A. baumannii*. As frações de folhas e galhos (AcOEt) apresentaram resultados apenas contra três bactérias Gram-positivas: *B. subtilis*, *S. aureus* e *S. parasanguinis*, e os halos variaram de 13 a 21 mm, e as frações em (MeOH) foram as que menos apresentaram atividades, sendo ativas apenas os extratos das folhas, contra três bactérias *S. aureus*, *S. simulans* e *S. choleraesuis*, e os halos variaram de 13 a 16 mm (Tabela 10).

Quando avaliada a substância isolada de galhos (HEX/AcOEt) de *A. panurensis*, houve a inibição de quatro bactérias Gram-positivas: *B. subtilis*, MRSA, *S. simulans*, *S. aureus* e *S. agalactiae*, e os halos variaram de 11 a 20 mm (Tabela 10).

Os extratos folhas e galhos (EtOH) de *A. ferrea* não apresentaram atividade frente às bactérias e *C. albicans*, mas quando avaliadas as suas frações nos diferentes solventes contra as trinta e sete bactérias, as frações das folhas e galhos (MeOH) apresentaram uma pequena atividade contra *S. choleraesuis*, e a fração dos galhos (DCM) apresentou uma boa atividade contra *S. aureus*, e os diâmetros das diferentes frações variaram de 15 a 20 mm (Tabela 10).

O extrato dos galhos (EtOH) de *A. parviflora* não apresentou atividades frente as bactérias e *C. albicans*, mas quando avaliadas as frações nos diferentes solventes contra as 37 bactérias, a fração dos galhos (AcOEt) apresentou boa atividade contra 3 bactérias: *S. aureus*, *S. simulans* e *S.*

choleraesuis, e a fração dos galhos (DCM), foi ativa contra 2 bactérias, *B. subtilis* e *S. aureus*. Os halos para estas frações variaram de 15 a 20 mm (Tabela 10).

Apesar dos extratos das folhas e galhos (EtOH) de *O. leucoxyton*, *A. guianensis*, *L. martiniana* e *L. cannella angustata*, não apresentarem atividades contra nem uma cepa bacteriana, os extratos dos galhos de *O. leucoxyton*, *L. martiniana* e *L. cannella angustata*, foram ativos contra *C. albicans* com os diâmetros variando entre 15 e 20mm. Quando avaliadas as frações das espécies mencionadas acima, a fração dos galhos de *O. leucoxyton* (DCM) apresentou boa atividade contra *S. simulans* e uma moderada atividade contra *B. subtilis*. A fração dos galhos de *A. guianensis* (MeOH), também apresentou uma moderada atividade contra *S. choleraesuis* (Tabela 10).

As espécies estudadas que não apresentaram atividades frente a nenhuma cepa bacteriana e *C. albicans*, foram: *Annona muricata* L. (Graviola), *Averrhoa carambola* L. (Carambola), *Astrocaryum aculeatum* (Tucumã arara), *Bertholletia excelsa* H.B.K. (Castanha do Brasil), *Dioscorea alata* L. (Cará), *Mauritia flexuosa* L. (Buriti), *Paullinia cupana* (Guaraná), *Pouteria caimito* (Abiu), *Rollinia mucosa* (Biriba), *Theobroma grandiflorum* (Cupuaçu) e *Theobroma subincanum* (Cupuí).

		(AcOEt) -Fração	17	-	20	-	-	-	-	17	
		(DCM) -Fração	15	18	-	-	-	-	-	-	
<i>O. leucoxylon</i>		(EtOH) - Extrato	-	-	-	-	-	-	-	20	
	Galhos	(DCM) - Fração	15	-	-	20	-	-	-	-	
<i>A. guianensis</i>		(EtOH) - extrato	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Galhos	(MeOH) -fração	-	-	-	-	-	-	-	15	
<i>L. martiniana</i>	Folhas	(EtOH) - extrato	-	-	-	-	-	-	-	15	
<i>L. cannella angustata</i>	Galhos	(EtOH) - extrato	-	-	-	-	-	-	-	17	
TIENAM e FLU			39	28	30	25	27	30	35	30	0

Tabela 10: Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana dos extratos, frações e isolados de *Aniba Panurensis*, *Aniba ferrea*, *Aniba parviflora*, *Ocotea leucoxylon*. Concentração inicial de (5 mg/mL), resultado do halo de inibição milímetro (mm): Droga padrão de bactéria: Imipenem/Cilastatina sódica (TIENAM), droga padrão de *Candida albicans*: Fluconazol (FLU).

Informações adicionais:

- As amostras que estão no solvente diclorometano (DCM) foram obtidas nas partições alcalóidicas, sendo que a fração 2 coletada nesta partição ácido-base são frações rica em alcaloides.
- As amostras da partição flavonoídica são as que estão em solventes de acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), na fração de acetato de etila podemos ter flavonóides de media a alta polaridade e na fração do solvente metanol temos flavonóides de alta polaridade.

5.2 Concentração inibitória mínima (CIMS)

As doze espécies de plantas que apresentaram atividades no teste de difusão em ágar acima ou superior a 15mm, foram submetidos ao teste de concentração inibitória mínima. No presente método usado neste estudo, alguns critérios sugeridos por HOLETZ et al, (2002) (Tabela 11) foram empregados, pois o mesmo aborda que os extratos vegetais que apresentarem atividade antimicrobiana em concentrações acima ou igual de 1000 mg/mL nos testes CIMs são considerados inativos, sendo de difícil aproveitamento farmacêutico no tratamento de infecções bacterianas e antifúngicas.

CIMs DO EXTRATO	RESULTADO
Abaixo de 100 µg/mL	Boa atividade antimicrobiana
Entre 100 e 500 µg/mL M	Moderada atividade antimicrobiana
Entre 500 e 1000 µg/mL	Fraca atividade antimicrobiana
Acima de 1000 µg/mL	Inativo

Tabela 11: Critério de avaliação da atividade antimicrobiana pela técnica de poços

No presente estudo, vários extratos, frações e isolados apresentaram as concentrações inibitórias mínimas (CIM) abaixo de 1000 µg/mL. Como podemos observar os extratos etanólicos das sementes e polpas de *C. villosum* (PIQUIÁ), apresentaram a concentração inibitória mínima de 62,5 µg/mL contra *S. pyogenes* e *S. choleraesuis*. O extrato etanólico das sementes apresentou a concentração inibitória mínima de 125 µg/mL frente a *S. agalactiae* e *S. choleraesuis*, e o extrato das polpas apresentou a concentração inibitória mínima de 250 µg/mL frente a *B. liquiniformes*, *B. subtilis*, *pyogenes*, *Y. enterocolítica*, *S. arizonae* e *S. flexneri*. Outro extrato que obteve a concentração inibitória mínima de 125 µg/mL foi extrato das cascas (EtOH:70%), contra *S. pyogenes*, *S. choleraesuis* e *S. typhi*, e esse mesmo extrato apresentou (CIM) de 250 µg/mL contra *B. subtilis* e 500 µg/mL contra *Y. enterocolítica* e *S. arizonae*, já o extrato de cascas (EtOH) apresentou a concentração inibitória mínima de 500 µg/mL frente a *B. liquiniformes*, *S. simulans*, *E. coli*, *S. arizonae* e *S. choleraesuis* (Tabela 12).

Caryocar villosum-PIQUIÁ

Parte da planta (Solvente)	Gram-positivas							Gram-negativas						Fungo	
	<i>Bacillus</i>		<i>Streptococcus</i>		<i>Staphylococcus</i>			<i>Salmonella</i>				<i>Shigella</i>			
	<i>liquiniiformes</i>	<i>subtilis</i>	<i>agalactiae</i>	<i>pyogenes</i>	MRSA	<i>simulans</i>	<i>aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Y. enterocolítica</i>	<i>arizonae</i>	<i>choleraesuis</i>	<i>typhi</i>	<i>flexneri</i>	<i>dysenteriae</i>	<i>C. albicans</i>
Cascas (EtOH)	500					500	-	500		500	500		-		
(EtOH:70%)			250	125	-	-	-		500	500	125	125	-	-	-
Polpas (EtOH)				250		-	-			250	62,5		250		
(EtOH:70%)	250	250							250		250		250		
Semente (EtOH)													-		
(EtOH:70%)			125	62,5							125				
TIENAM e FLU	15,5	7,8	15,5	15,5	15,5	15,5	15,5	15,5	15,5	15,5	15,5	15,5	15,5	15,5	-

Tabela 12: Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos etanólico (EtOH) e hidroalcolico (EtOH: 70%) de *Caryocar villosum*-PIQUIÁ. Concentração inicial de (1000 mg/mL): Droga padrão de bactéria: Imipenem/Cilastatina sódica (TIENAM), droga padrão de *Candida albicans*: Fluconazol (FLU).

Os extratos de *E. precatória*, *I. edulis* apresentaram CIM apenas na concentração de 1000 µg/mL frente a *S. choleraesuis* e *E. coli* e o extrato das sementes (EtOH) foi ativo a 500 µg/mL, frente a *C. albicans*. E o extrato *Euterpe oleracea* não foi ativo na concentração inicial de 1000 µg/mL no teste do CIM contra *C. albicans* (Tabela 13).

A concentração inibitória mínima dos extratos de *G. madruno* e *P. insignis*, foram de 500 µg/mL frente as cepas *S. simulans*, *B. subtilis* e *C. albicans*. E os extratos de *P. klugii* todos foram inativos na concentração inicial de 1000 µg /mL (Tabela13).

Espécie	Parte da planta (Solvente)	Gram-positivas			Gram-negativas				<i>C. Albicans</i>	
		<i>Bacillus</i>		<i>Streptococcus</i>		<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>			
		<i>Liquiniformes</i>	<i>subtilis</i>	MRSA	<i>simulans</i>		<i>aureus</i>	<i>arizonae</i>		<i>choleraesuis</i>
<i>E. precatória</i>	Semente (EtOH) (EtOH:70%)							1000	-	
<i>E. oleracea</i>	Semente (EtOH)								-	
<i>I. edulis</i>	Semente (EtOH)								500	
	Cascas (EtOH:70%)					1000				
<i>G. madruno</i>	Cascas (EtOH) (EtOH:70%)		-	500		-			500	
	Semente (EtOH:70%)								500	
	Semente (EtOH:70%)		500						-	
<i>P. insignis</i>	Mesocarpo (EtOH)								-	
	Folhas (MeOH)								-	
<i>P. klugii</i>	Galhos finos (EtOEt)								-	
	Galhos grossos (EtOEt)								-	
	Cascas (HEX)			-		-				
	Cascas (EtOEt)			-		-				
	Cascas (AcOEt)			-		-				
TIENAM e FLU		15,5	7,8	15,5		15,5	15,5	15,5	15,5	-

Tabela 13: Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos de *Euterpe precatória*, *Euterpe oleracea*, *Ingá edulis*, *Garcinia madruno*, *Platonia insignis* e *Protium klugii*, concentração inicial de (1000 mg/mL). Droga padrão de bactéria: Imipenem/Cilastatina sódica (TIENAM), droga padrão de *Candida albicans*: Fluconazol (FLU).

As melhores concentrações inibitórias mínimas foram obtidas com as espécies da família de Lauraceae. A CIM dos extratos das folhas e galhos (EtOH) de *A. panurenses*, foram de 62,5 µg/mL contra *B. subtilis*, MRSA, *S. simulans* e contra *S. agalactiae* foi de 125 µg/mL e a menor atividade foi de 250 µg/mL contra *S. aureus* (Tabela 14).

Quando avaliadas as CIMs das frações ou partições nos diferentes solventes, a fração dos galhos (DCM 2), foi ativa a 15,5 µg/mL contra *S. aureus*, e a mesma fração apresentou CIM de 31,25 µg/mL contra MRSA, 62,5 µg/mL contra *S. simulans* e 250 µg/mL frente a *A. baumannii*. E a CIM da fração das folhas (DCM 2), foi de 31,25 µg/mL contra *S. aureus*, MRSA, *S. simulans*, 62,5 µg/mL contra *S. simulans* e de 250 µg/mL frente a *A. baumannii*. A CIM das frações das folhas e galhos (AcOEt) foram de 31,25 µg/mL contra *S. aureus* e 1000 µg/mL frente ao *B. subtilis*. E a CIM da fração das folhas (MeOH) foi de 1000 µg/mL contra *S. simulans*. Os resultados do composto isolado de galhos (HEX/AcOEt) foram similares, frente às quatro bactérias Gram-positivas: *B. subtilis*, *S. aureus*, MRSA e *S. simulans*, e a concentração mínima de todas as cepas de foi de 62,5 µg/mL (Tabela 14).

Das frações de *A. ferrea*, apenas a fração dos galhos (DCM) apresentou (CIM) de 31,25 µg/mL contra *S. aureus* (Tabela 14). A CIMs da fração dos galhos (AcOEt) de *A. parviflora* foi de 500 µg/mL contra *S. aureus* e a fração de (DCM) foi de 1000 µg/mL contra *S. aureus*. A CIMs da fração dos galhos (DCM) de *O. leucoxyton* foi de 31,25 µg/mL contra *S. simulans* e 1000 µg/mL frente ao *B. subtilis*. A CIM do extrato de galhos (EtOH) de *O. leucoxyton* foi de 1000 µg/mL contra *C. albicans*. As demais frações que apresentaram atividades de 15mm nos testes de difusão não foram ativas na concentração inicial de 1000 µg/mL no teste do CIM (Tabela 14)

Espécie	Parte da planta	Reagente	Gram-positivas						Gram-negativas		Fungo
			<i>Staphylococcus</i>			<i>Streptococcus</i>			<i>A. baumannii</i>	<i>S. choleraesuis</i>	<i>C. albicans</i>
			<i>B. subtilis</i>	<i>aureus</i>	MRSA	<i>simulans</i>	<i>agalactiae</i>	<i>parasanguinis</i>			
<i>A. Panurensis</i>	Folhas	(EtOH) - extrato	65,5	250	62,5	62,5	125			250	
		DCM-Fração	-	31,25	31,25	62,5				250	
		(DCMa) -Fração	-						-		
		(AcOEt) -Fração	-	31,25							
		(MeOH) -Fração				1000					
	Galhos	(EtOH) - extrato	65,5	250	62,5	62,5	125			250	-
		DCM-Fração	-	15,5	31,25	62,5				250	
		(DCMa) -Fração	-						-		
		(AcOEt) -Fração	1000	31,25					-		
		Galhos	HEX/AcOEt- 366a	62,5	62,5	62,5	62,5	-			
<i>A. ferrea</i>	Folhas	(MeOH) -Fração								-	
	Galhos	(MeOH) -Fração								-	
		(DCM) -Fração		31,25							
<i>A. parviflora</i>	Galhos	(AcOEt) -Fração		500		125				-	
		(DCM) -Fração	-	1000							
<i>O. leucoxyton</i>	Galhos	(EtOH) - Extrato									1000
		(DCM) - Fração	1000			31,25					

<i>A. guianensis</i>	Galhos	(MeOH) -fração	-
<i>L. martiniana</i>	Folhas	(EtOH) - extrato	-
<i>L. cannella</i> <i>angustata</i>	Galhos	(EtOH) - extrato	-

Tabela 14: Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos, frações e isolados de *Aniba Panurensis*, *Aniba ferrea*, *Aniba parviflora*, *Ocotea leucoxylon*. Concentração inicial de (1000 mg/mL). Droga padrão de bactéria: Imipenem/Cilastatina sódica (TIENAM), droga padrão de *Candida albicans*: Fluconazol (FLU).

5.3 Curva de morte

5.3.1 Testes de diluição em caldo

Optou-se pela realização deste teste, por ser uma técnica quantitativa, utilizada para monitorar o crescimento bacteriano através de Densidade Óptica (DO). Este teste foi realizado apenas com as frações que apresentam CIMs de 62,5 µg/mL igual ou menor frente as bactérias Gram positivas. As frações que apresentaram estas CIMs foram partições de diclorometano (DCM) das folhas e galhos de *A. panurensis* frente as cepas de *S. aureus*, *S. simulans* e MRSA e a partição das folhas e galhos em Acetato de etila (AcOEt) frente a *S. aureus* (Figura 3 a 10). A fração dos galhos em diclorometano (DCM) de *A. ferrea* frente a cepa *S. aureus* (Figura 11) e fração dos galhos em diclorometano (DCM) de *O. leucoxyllum* frente ao micro-organismo *S. simulans* (Figura 12).

Quando avaliados os resultados das DO, observou-se que o controle negativo feito com dimetilsulfóxido, o qual foi utilizado para solubilizar as frações, não interferiu no crescimento bacteriano, evitando resultados falso positivos. O controle positivo utilizado foi apenas a bactéria inoculada no meio de cultura BHI, que serviu para observação da presença do crescimento populacional normal durante todo experimento. Através desse controle foram feitas as comparações com os crescimentos das bactérias na presença das substâncias biotivas e com isto foi possível comparar atividade microbicide e microbiostática das substâncias bioativas. Também foi utilizada como controle uma droga padrão, que serviu com base de comparação da eficácia na inibição e morte microbiana. O controle da droga padrão Imipenem/Cilastatina sódica (TIENAM), demonstrou os resultados esperados em todos os testes (Figura 5 a 12).

Na figura 3 encontram-se expressos os resultados da atividade da fração das folhas em diclorometano de *A. panurensis* frente a *S. aureus* na concentração de 31,25 µg/mL. Observa-se que a fração com apenas a dose inicial (fração 1X) apresentou atividade bacteriostática próximo a 0 entre os intervalos de 6 a 24 horas, porém entre o intervalo de 24 a 36 horas houve um aumento no crescimento bacteriano (controle +) e com isto, teve uma queda na população bacteriana. Mas a partir de 36 horas, houve um comportamento oscilatório da população bacteriana provocado pelo tratamento. E quando avaliada a D.O da fração com doses

subsequente (fração +), observa-se que até 24 horas essa amostra não apresentou atividades relevantes, sendo os resultados similar a fração 1X. A partir daí o tratamento promove uma estabilização populacional até o tempo 48 horas, quando provoca uma queda na população praticamente em todos os intervalos. Resultados similares foram demonstrados na fração em acetato de etila (AcOEt) frente a mesma bactéria (Figura 4).

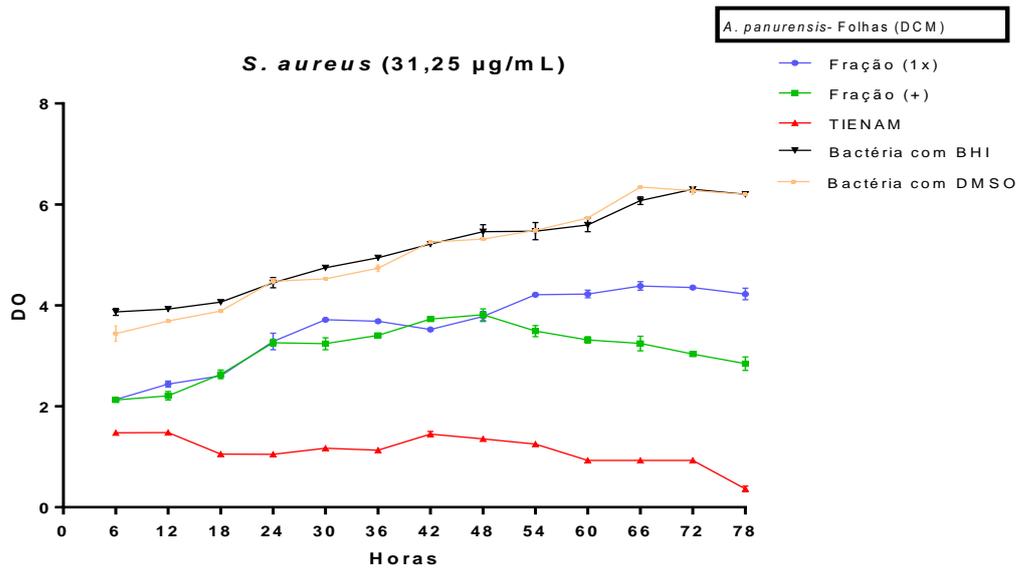


Figura 3: Inibição de *Staphylococcus aureus* utilizando fração das folhas em diclorometano (DCM) de *Aniba panurensis*

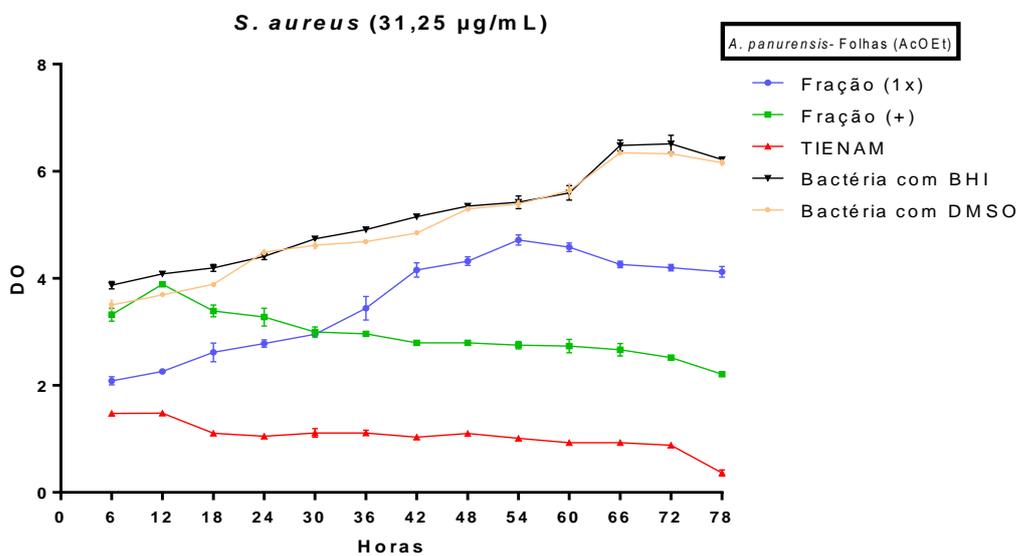


Figura 4: Inibição de *Staphylococcus aureus* utilizando a fração das folhas em Acetato etila (AcOEt) de *Aniba panurensis*.

Quando avaliada a inibição da D.O das folhas frente *S. simulans* na concentração de 62,5µg/mL, observa-se que a (fração1X) não apresentou atividades relevantes, pois a curva foi similar ao controle da bactéria. Porém a fração +, apresentou atividades bacteriostática até o ultimo intervalo avaliado (Figura 5).

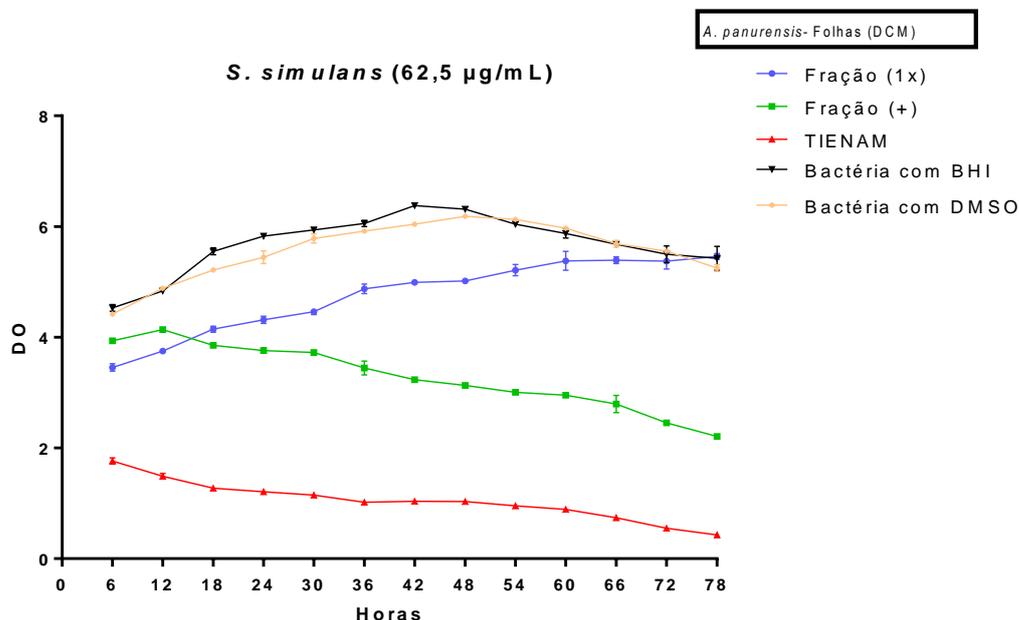


Figura 5: Inibição de *Staphylococcus simulans* utilizando a fração das folhas em diclorometano (DCM) de *Aniba panurensis*.

Através da figura 6 pode-se observa que a fração das folhas em diclorometano apresenta menores índices de inibição frente *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA). Sendo que fração 1X não apresentou atividades. No entanto a fração +, apresentou atividade bacteriostática a partir de 18 horas e o mesmo pode ser observado no controle da droga.

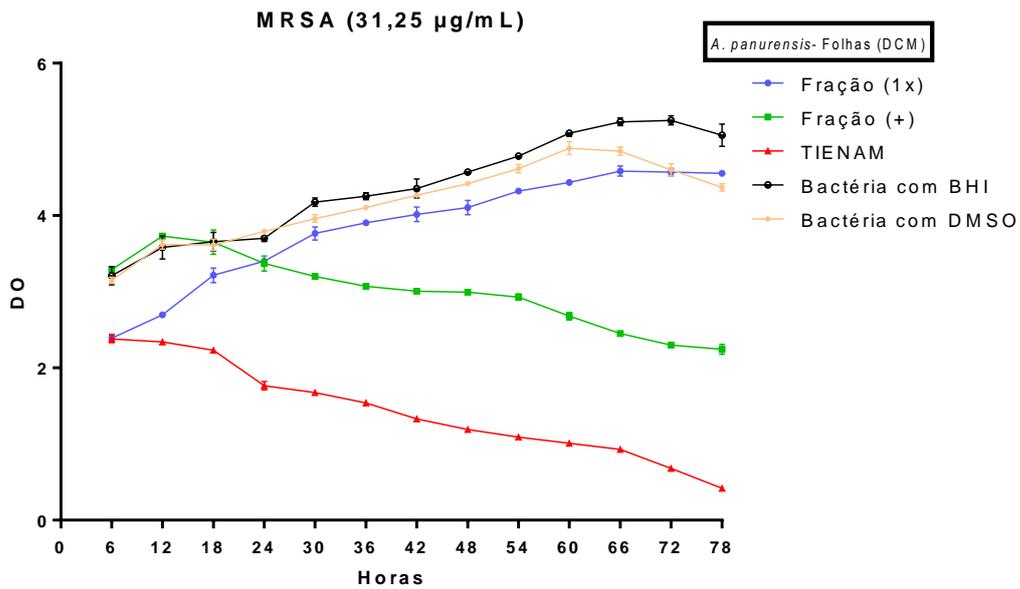


Figura 6: Inibição de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (MRSA), utilizando a fração das folhas em diclorometano (DCM) de *Aniba panurensis*.

Quando avaliadas as frações dos galhos de *A. panurenses*. Observa-se na figura 7 a inibições bacteriostáticas semelhantes para ambas as doses a partir de 24 horas frente a *S. aureus* na concentração de 15, 5 µg/mL, porém a fração + apresentou inibição mais acentuada a partir de 30 horas. Em contrapartida quando avaliada a fração em acetato de etíla (AcOEt) frente a mesma cepa em uma concentração superior, observa-se que os resultados são similares a fração em DCM (Figura 8).

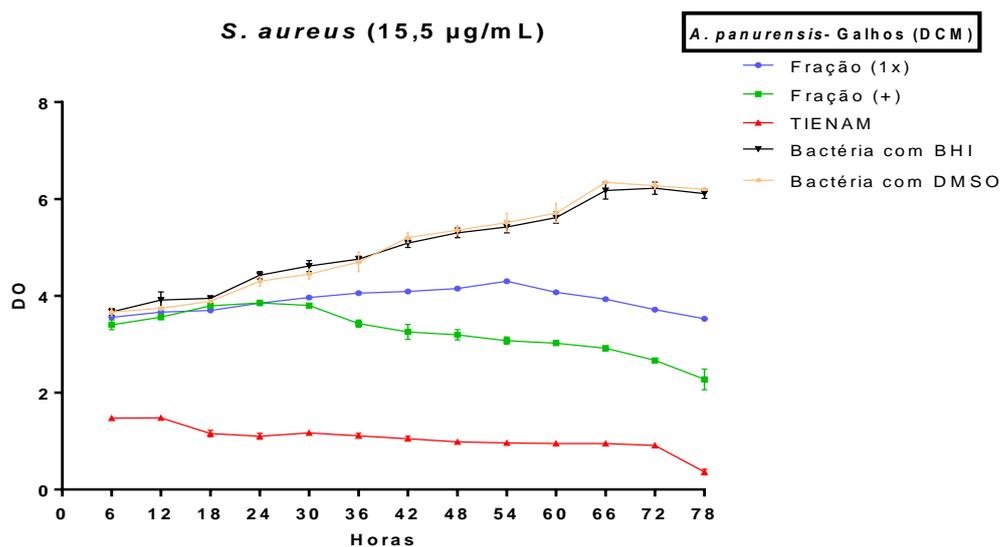


Figura 7: Inibição de *Staphylococcus aureus* utilizando a fração dos galhos em diclorometano (DCM) de *Aniba panurensis*.

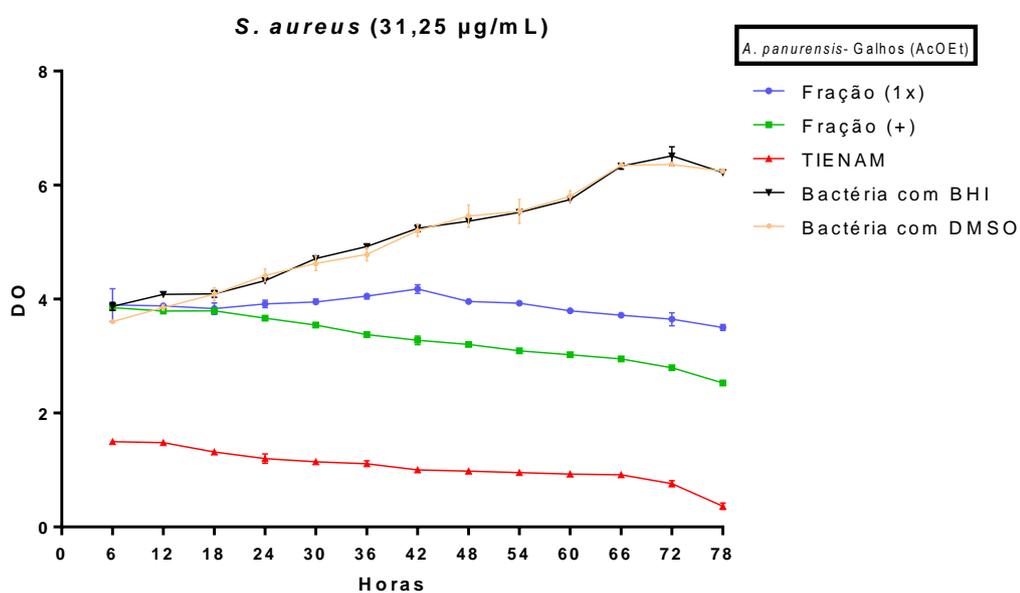


Figura 8: Inibição de *Staphylococcus aureus* utilizando a fração de galhos em acetato de etila (AcOEt) de *Aniba ferrea*

Na figura 9 pode-se observar uma inibição bacteriostática superior da fração +, em todos os intervalos. Mas também se observa a inibição bacteriostática da amostra que contém apenas a dose inicial, porém esta perde a atividade após 30 horas (Fração 1X).

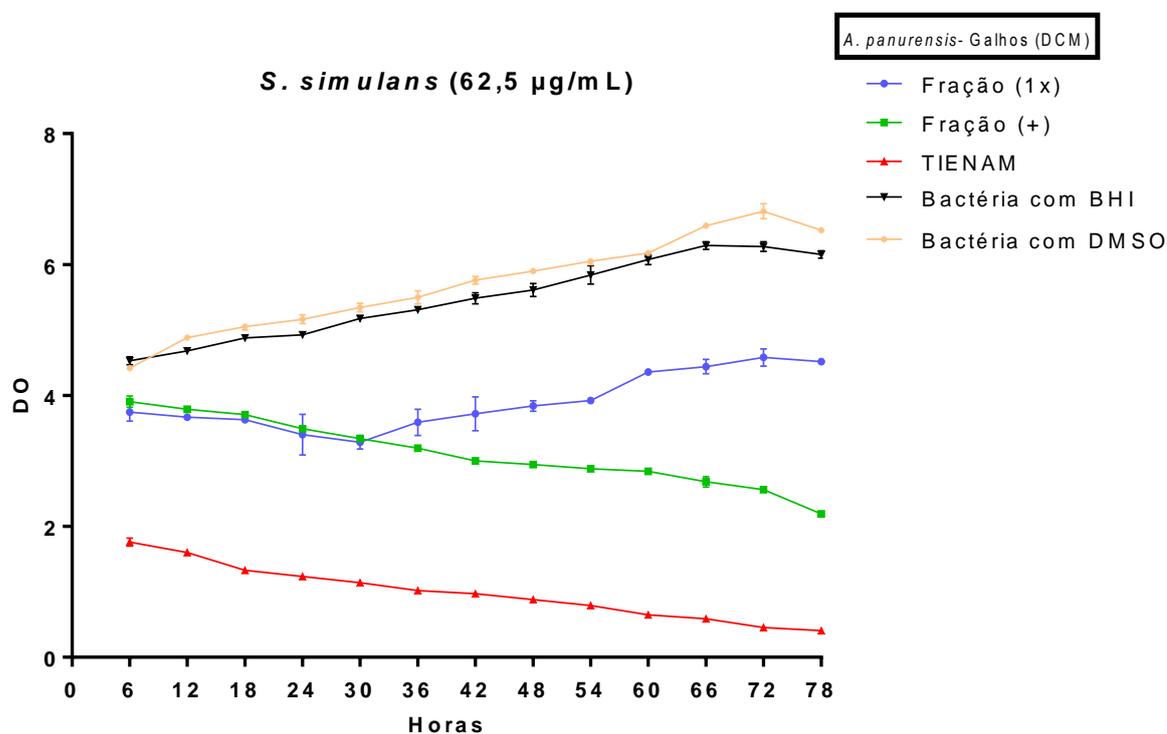


Figura 9: Inibição de *Staphylococcus simulans* utilizando a fração dos galhos em diclorometano (DCM) de *Aniba panurensis*.

Na figura 10 é avaliada a fração em diclorometano, frente a *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (MRSA). Porém a fração 1X não promove inibição. Mas em contrapartida é possível observar uma boa atividade das doses subsequentes a partir de 30 horas.

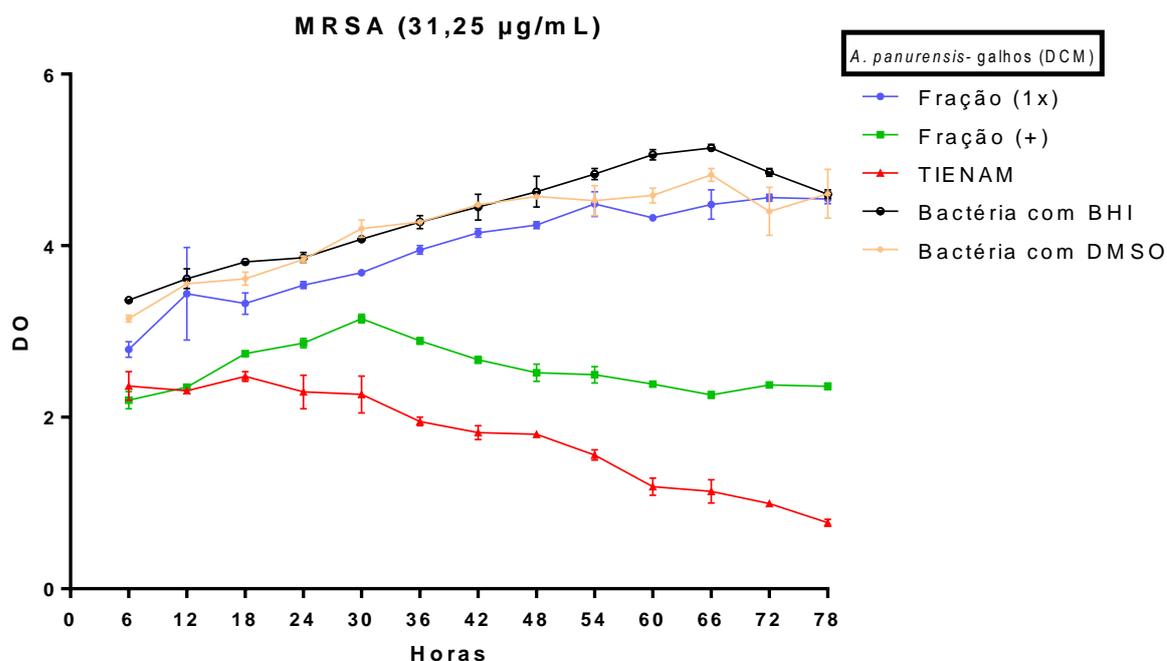


Figura 10: Inibição de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina utilizando a fração dos galhos em diclorometano (DCM) de *Aniba panurensis*.

Na figura 11 se observa a inibição da fração em diclorometano de *A. ferrea*, frente a cepa *S. aureus*, na concentração de 31,25 µg/mL. Observa-se que a fração contendo apenas a dose inicial (fração 1x), apresentou inibição bacteriostática, e essa inibição se manteve até 48 horas, após perder a capacidade de manter a estabilidade do crescimento microbiano. E a fração + começa a promover inibição a partir de 18 horas, mas no intervalo seguinte promove queda populacional até o final.

E na figura 12 a fração dos galhos em diclorometano de *O. leucoxyllum*, frente a cepa de *S. simulans*, foi observado apenas a inibição bacteriostática na fração + desde do primeiro intervalo, porém a partir de 36 horas a população volta a subir logaritmicamente até 54 horas, após volta a inibir o crescimento do micro-organismo com queda até o final.

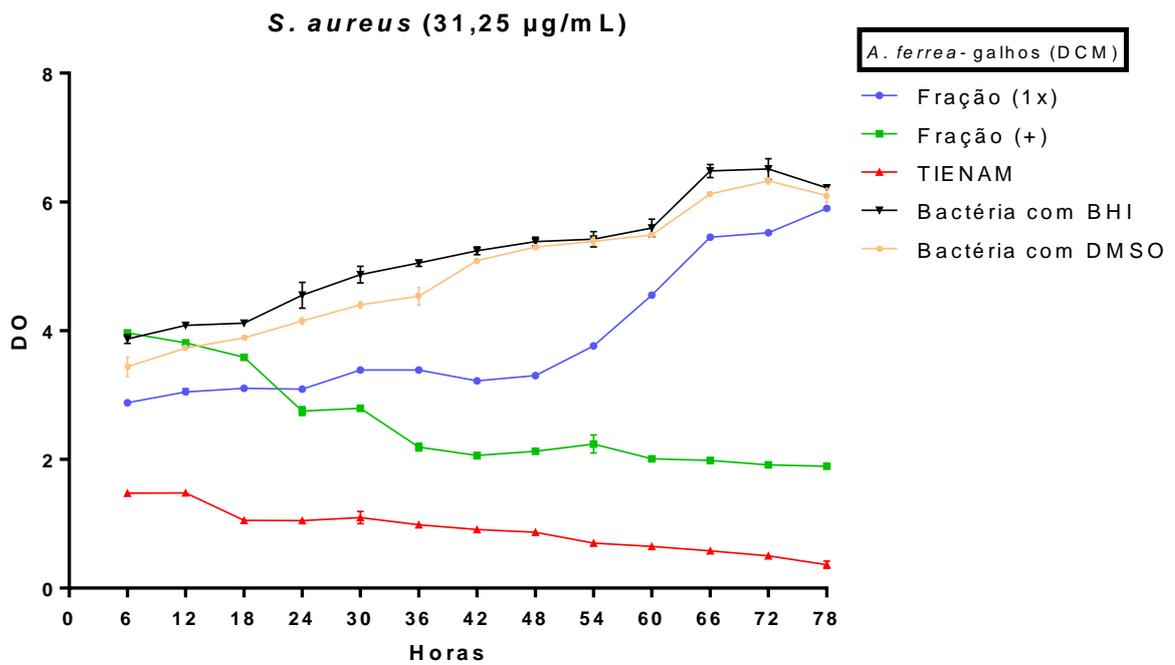


Figura 11: Inibição de *Staphylococcus aureus* utilizando a fração de galhos em diclorometano (DCM) de *Aniba ferrea*

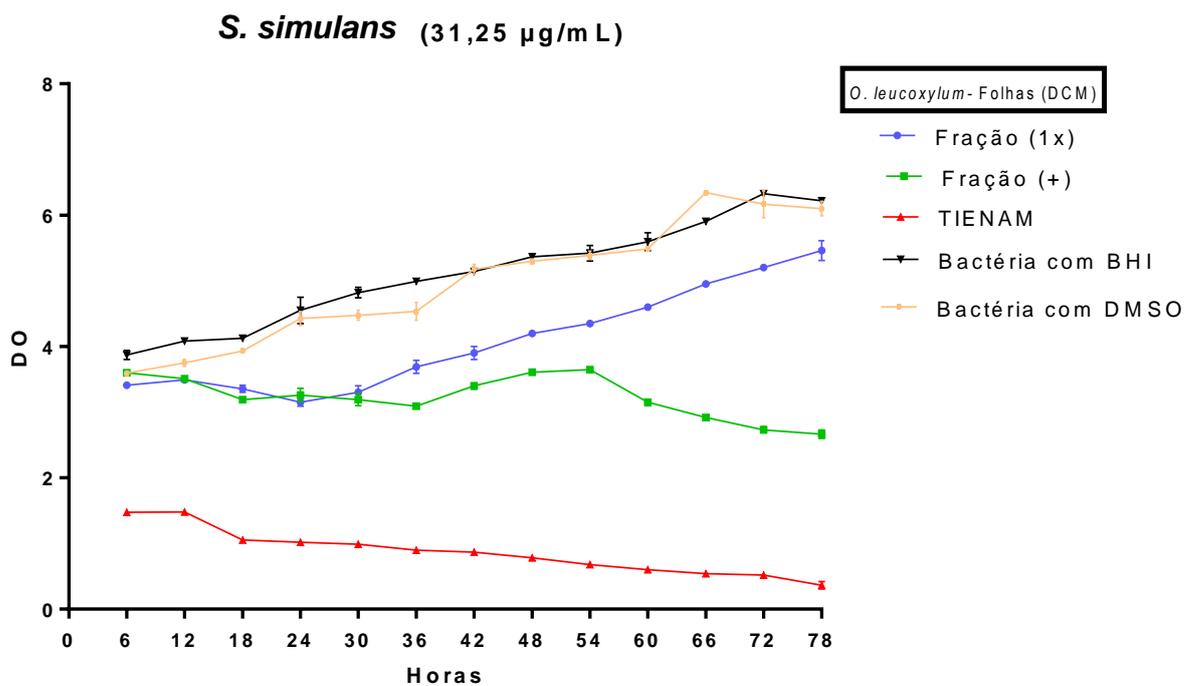


Figura 12: Inibição de *Staphylococcus simulans* utilizando a fração de galhos em diclorometano (DCM) de *Ocotea leucoxyllum*.

5.3.2 Teste de dosagem 6/6 com a Quantificação de Unidades Formadora de Colônias (UFC)

Ao observar o resultado do teste de curva de morte, onde a maioria dos extratos testados tinham uma diminuição em sua atividade antibacteriana após um período de 6 horas, foi proposto então, a realização do teste de dosagem para verificar se a adição de doses subsequentes após um período de 6 horas comparado com a não adição de mais uma dose subsequente no mesmo período levaria ou não a diminuição da atividade antibacteriana do material testado. Também foram quantificadas as unidades formadoras de colônias dos controles (bactéria com BHI e Bactéria com DMSO). O controle feito com dimetilsulfóxido, em nenhum intervalo foi possível quantificar as colônias. E o mesmo ocorreu com o controle positivo, onde foi utilizado apenas a bactéria inoculada no meio de cultura BHI. As amostras que não foram possíveis quantificar os números de colônias, foram determinadas como IN e os testes foram realizados em duplicatas.

Na Tabela 15 e ,16 encontram-se expressos os resultados das frações das folhas e galhos de *A. panurensis* frente a *S. aureus*, *S. simulans* e MRSA, e pode-se observar que as bactérias que receberam apenas a dose inicial não apresentaram diminuição no inóculo bacteriano em nem um intervalo. Demonstrando assim, que as substâncias biotivas presente nas frações perdem suas atividades antibacterianas após um período de 6 horas, se não ocorrer a adição de mais uma dose da fração após esse período de tempo. E o número de colônias aumenta progressivamente atingindo os valores próximos ao controle positivo.

Mas em contrapartida as frações+ apresentam atividade a partir das 18 horas, levando a diminuição ou manutenção do inóculo bacteriano aplicado, com a formação de um baixo número de colônias nas placas, quando comparado ao controle da bactéria (Tabela 15 e 16). Sendo que as melhores atividades foram observadas nas frações em diclorometano e acetato de etíla frente a bactéria *S. aureus*, chegando a zero o número de colônia a partir das 66 horas (Tabela 15 e 16). O mesmo pode ser observado na fração dos galhos de *A. ferrea* (Tabela 17).

A. panurensis- Fração das folhas em diclorometano (DCM) e acetato de etila AcOEt

Horas	Bactérias/Doses (31,25µg/mL)	Colônias/placa	UFC/mL
6	87 fração 1X	3.892	3,89 x 10 ⁸
	87 fração +	-	-
	87 fração 1X (AcOEt)	2.133	2,13 x 10 ⁸
	87 fração + (AcOEt)	-	-
	87 C+	189	0,18 x 10 ⁸
	94 fração 1X	3.184	3,18 x 10 ⁸
	94 fração +	-	-
	94 C+	398	0,39 x 10 ⁸
	97 fração 1X	4.234	4,23 x 10 ⁸
	97 fração +	-	-
	97 c+	1.482	1,48 x 10 ⁸
12	87 fração 1X	4.239	4,23 x 10 ⁸
	87 fração +	1.002	1,00 x 10 ⁸
	87 fração 1X (AcOEt)	IN	-
	87 fração +(AcOEt)	3.772	3,77
	87 C+	179	0,18 x 10 ⁸
	94 fração 1X	3.995	3,99 x 10 ⁸
	94 fração +	1.130	1,13 x 10 ⁸
	94 C+	45	0,04 x 10 ⁸
	97 fração 1X	4.531	4,53 x 10 ⁸
	97 fração +	489	0,49 x 10 ⁸
	97 c+	115	0,11 x 10 ⁸
18	87 fração 1X	4.299	4,29 x 10 ⁸
	87 fração +	268	0,26 x 10 ⁸
	87 fração 1X (AcOEt)	IN	-
	87 fração +(AcOEt)	2.281	2,28 x 10 ⁸
	87 C+	204	0,20 x 10 ⁸
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	254	0,25 x 10 ⁸
	94 C+	204	0,20 x 10 ⁸
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	390	0,39 x 10 ⁸
	97 c+	170	0,17 x 10 ⁸
24	87 fração 1X	4.299	4,29 x 10 ⁸
	87 fração +	617	0,61 x 10 ⁸
	87 fração 1X (AcOEt)	IN	-
	87 fração +(AcOEt)	2.381	2,38 x 10 ⁸
	87 C+	201	0,20 x 10 ⁸
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	388	0,38 x 10 ⁸
	94 C+	87	0,08 x 10 ⁸
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	461	0,46 x 10 ⁸
	97 c+	166	0,16 x 10 ⁸
30	87 fração 1X	IN	-
	87 fração +	378	0,37 x 10 ⁸
	87 fração 1X (AcOEt)	4.876	4,87 x 10 ⁸
	87 fração +(AcOEt)	1.989	1,98 x 10 ⁸
	87 C+	44	0,04 x 10 ⁸
	94 fração 1X	IN	-

	94 fração +	290	$0,29 \times 10^8$
	94 C+	79	$0,07 \times 10^8$
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	456	$0,45 \times 10^8$
	97 c+	198	$0,19 \times 10^8$
36	87 fração 1X	IN	-
	87 fração +	542	$0,54 \times 10^8$
	87 fração 1X (AcOEt)	IN	-
	87 fração + (AcOEt)	1.900	$1,90 \times 10^8$
	87 C+	103	0,10
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	241	$0,24 \times 10^8$
	94 C+	201	$0,20 \times 10^8$
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	478	$0,47 \times 10^8$
	97 c+	108	$0,10 \times 10^8$
42	87 fração 1X	IN	-
	87 fração +	1.240	$1,24 \times 10^8$
	87 fração 1X (AcOEt)	IN	-
	87 fração + (AcOEt)	1.213	$1,21 \times 10^8$
	87 C+	416	$0,41 \times 10^8$
	94 fração 1X	4.876	$4,87 \times 10^8$
	94 fração +	789	$0,78 \times 10^8$
	94 C+	400	$0,40 \times 10^8$
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	498	$0,49 \times 10^8$
	97 c+	133	$0,13 \times 10^8$
48	87 fração 1X	IN	-
	87 fração +	236	$0,23 \times 10^8$
	87 fração 1X (AcOEt)	IN	-
	87 fração +(AcOEt)	600	$0,60 \times 10^8$
	87 C+	87	$0,08 \times 10^8$
	94 fração 1X	4.345	$4,34 \times 10^8$
	94 fração +	198	$0,19 \times 10^8$
	94 C+	21	$0,02 \times 10^8$
	97 fração 1X	4.875	$4,87 \times 10^8$
	97 fração +	340	$0,34 \times 10^8$
	97 c+	167	$0,16 \times 10^8$
54	87 fração 1X	IN	-
	87 fração +	401	$0,40 \times 10^8$
	87 fração 1X (AcOEt)	IN	-
	87 fração + (AcOEt)	189	$1,89 \times 10^8$
	87 C+	46	$0,04 \times 10^8$
	94 fração 1X	4.876	$4,87 \times 10^8$
	94 fração +	203	$0,20 \times 10^8$
	94 C+	89	$0,08 \times 10^8$
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	324	$0,32 \times 10^8$
	97 c+	149	$0,14 \times 10^8$
50	87 fração 1X	IN	-
	87 fração +	62	$0,06 \times 10^8$
	87 fração 1X (AcOEt)	IN	-
	87 fração + (AcOEt)	0	$0,00 \times 10^8$
	87 C+	45	$0,04 \times 10^8$
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	45	$0,04 \times 10^8$
	94 C+	15	$0,01 \times 10^8$
97 fração 1X	IN	-	

	97 fração +	321	0,32 x 10 ⁸
	97 c+	103	0,10 x 10 ⁸
66	87 fração 1X	4.119	4,11 x 10 ⁸
	87 fração +	0	0,00 x 10 ⁸
	87 fração 1X (AcOEt)	4.101	4,10 x 10 ⁸
	87 fração + (AcOEt)	0	0,00 x 10 ⁸
	87 C+	0	0,00 x 10 ⁸
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	51	0,05 x 10 ⁸
	94 C+	15	0,01 x 10 ⁸
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	2	0,00 x 10 ⁸
	97 c+	105	1,05
72	87 fração 1X	4.123	4,12 x 10 ⁸
	87 fração +	0	0,00 x 10 ⁸
	87 fração 1X (AcOEt)	3.324	3,32 x 10 ⁸
	87 fração +(AcOEt)	0	0,00 x 10 ⁸
	87 C+	0	0,00 x 10 ⁸
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	21	0,02 x 10 ⁸
	94 C+	11	0,01 x 10 ⁸
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	234	0,23 x 10 ⁸
	97 c+	121	0,12 x 10 ⁸
78	87 fração 1X	4.101	4,10 x 10 ⁸
	87 fração +	0	0,00 x 10 ⁸
	87 fração 1X (AcOEt)	3.424	3,42 x 10 ⁸
	87 fração +(AcOEt)	0	0,00 x 10 ⁸
	87 C+	0	0,00 x 10 ⁸
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	18	0,01 x 10 ⁸
	94 C+	9	0,00 x 10 ⁸
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	345	0,34 x 10 ⁸
	97 c+	256	0,25 x 10 ⁸

Tabela 15: Quantificação das unidades formadoras de colônias das frações das folhas de *Aniba panurensis* frente a *Staphylococcus aureus* (87); *Staphylococcus simulans* (94); *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (97); apenas com a dose inicial (fração 1x); Doses subsequentes (fração +); Incontáveis (IN); Controles da droga-Imipenem/Cilastatina sódica–TIENAM (C+).

<i>A. panurensis</i> - Fração dos galhos em diclorometano (DCM) e acetato de etila AcOEt			
Hora	Bactérias/ Bactérias/Doses (31,25µg/mL	Colônias/placa	UFC/mL
6	87 fração 1X	3.896	3,89
	87 fração +	-	-
	87 fração 1X (AcOEt)	3.113	3,11
	87 fração + (AcOEt)	-	-
	87 C+	654	0,65
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	2.881	2,8
	94 C+	1.400	1,40
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	2.456	2,45
	97 c+	800	0,80
12	87 fração 1X	3.786	3,78
	87 fração +	1.342	1,34
	87 fração 1X (AcOEt)	IN	-
	87 fração + (AcOEt)	2.986	2,98
	87 C+	430	0,43
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	130	0,13
	94 C+	45	0,04
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	215	0,21
	97 c+	100	0,10
18	87 fração 1X	3.654	3,65
	87 fração +	345	0,34
	87 fração 1X (AcOEt)	3.231	3,23
	87 fração + (AcOEt)	2.881	2,88
	87 C+	296	-
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	30	0,03
	94 C+	296	0,29
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	390	0,39
	97 c+	170	0,17
24	87 fração 1X	3.876	3,87
	87 fração +	321	0,32
	87 fração 1X (AcOEt)	3.234	3,23
	87 fração +(AcOEt)	2.456	2,45
	87 C+	201	0,20
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	388	0,38
	94 C+	65	0,06
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	461	0,46
	97 c+	222	0,22
30	87 fração 1X	IN	-
	87 fração +	378	0,37
	87 fração 1X (AcOEt)	3.451	3,45
	87 fração +(AcOEt)	2.986	2,98
	87 C+	49	0,4

	94 fração 1X		
	94 fração +	290	0,29
	94 C+	48	0,04
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	215	0,21
	97 c+	199	0,19
	<hr/>		
36	87 fração 1X	IN	-
	87 fração +	435	0,43
	87 fração 1X (AcOEt)	IN	-
	87 fração +(AcOEt)	2.876	2,87
	87 C+	118	0,11
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	235	0,23
	94 C+	804	0,80
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	261	0,26
	97 c+	134	0,13
	<hr/>		
42	87 fração 1X	IN	-
	87 fração +	1.123	1,12
	87 fração 1X (AcOEt)	IN	-
	87 fração +(AcOEt)	1.315	1,31
	87 C+	296	0,29
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	721	0,72
	94 C+	456	0,45
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	465	0,46
	97 c+	270	0,27
	<hr/>		
48	87 fração 1X	IN	-
	87 fração +	589	0,58
	87 fração 1X (AcOEt)	IN	-
	87 fração +(AcOEt)	601	0,60
	87 C+	87	0,08
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	98	0,09
	94 C+	21	0,21
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	341	0,34
	97 c+	167	0,16
	<hr/>		
54	87 fração 1X	4.457	4,45
	87 fração +	411	0,41
	87 fração 1X (AcOEt)	2.898	2,89
	87 fração +(AcOEt)	476	0,47
	87 C+	212	0,21
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	212	0,21
	94 C+	179	0,17
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	324	0,32
	97 c+	167	0,16
	<hr/>		
60	87 fração 1X	3.367	3,36
	87 fração +	345	0,34
	87 fração 1X (AcOEt)	2.897	2,89
	87 fração +(AcOEt)	512	0,51
	87 C+	92	0,09
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	321	0,32
	94 C+	21	0,02

	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	231	0,23
	97 c+	20	0,02
66	87 fração 1X	4.123	4,12
	87 fração +	0	0,00
	87 fração 1X (AcOEt)	2.999	2,99
	87 fração +(AcOEt)	321	0,32
	87 C+	0	0,00
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	51	0,05
	94 C+	15	0,01
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	2	0,00
	97 c+	105	0,10
72	87 fração 1X	3.876	3,87
	87 fração +	0	0,00
	87 fração 1X (AcOEt)	2.897	2,89
	87 fração +(AcOEt)	301	0,30
	87 C+	0	0,00
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	21	0,02
	94 C+	11	0,01
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	234	0,23
	97 c+	121	0,12
78	87 fração 1X	2.456	2,45
	87 fração +	0	0,00
	87 fração 1X (AcOEt)	2.876	2,87
	87 fração +(AcOEt)	287	0,28
	87 C+	0	0,00
	94 fração 1X	IN	-
	94 fração +	18	0,01
	94 C+	9	0,00
	97 fração 1X	IN	-
	97 fração +	345	0,34
	97 c+	256	0,25

Tabela 16: Quantificação das unidades formadoras de colônias das frações dos galhos de *Aniba panurensis* frente a *Staphylococcus aureus* (87); *Staphylococcus simulans* (94); *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (97); apenas com a dose inicial (fração 1x); Doses subsequentes (fração +); Incontáveisl (IN); Controles da droga-Imipenem/Cilastatina sódica –TIENAM (C+).

Fração dos galhos em diclorometano (DCM) de <i>A. ferrea</i> e <i>A. leucoxyllum</i>			
Hora	Bactérias/ Bactérias/Doses (31,25µg/mL	Colônias/placa	UFC/mL
6	<i>A. ferrea</i> - 87 fração 1X	2.100	2,10 x 10 ⁸
	<i>A. ferrea</i> -87 fração +	-	-
	<i>O. leucoxyllum</i> -94 fração 1X	2.132	2,13 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94fração + 87 C+	298	0,29 x 10 ⁸
12	<i>A. ferrea</i> - 87 fração 1X	2.800	2,80 x 10 ⁸
	<i>A. ferrea</i> -87 fração +	1.908	1,90 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94 fração 1X	2.300	2,30 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94fração + 87 C+	4.131	4,13 x 10 ⁸
18	<i>A. ferrea</i> - 87 fração 1X	2.612	2,61 x 10 ⁸
	<i>A. ferrea</i> -87 fração +	1.908	1,90 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94 fração 1X	1.908	1,90 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94fração + 87 C+	4.123	4,12 x 10 ⁸
24	<i>A. ferrea</i> - 87 fração 1X	4.436	4,43 x 10 ⁸
	<i>A. ferrea</i> -87 fração +	1.891	1,89 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94 fração 1X	IN	-
	<i>O. leucoxyllum</i> -94fração + 87 C+	2.340	2,34 x 10 ⁸
30	<i>A. ferrea</i> - 87 fração 1X	4.459	4,45 x 10 ⁸
	<i>A. ferrea</i> -87 fração +	1.800	1,80 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94 fração 1X	4.569	4,56 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94fração + 87 C+	1.987	1,98 x 10 ⁸
36	<i>A. ferrea</i> - 87 fração 1X	3.469	3,46 x 10 ⁸
	<i>A. ferrea</i> -87 fração +	987	0,98 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94 fração 1X	4.286	4,28 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94fração + 87 C+	1.980	1,98 x 10 ⁸
42	<i>A. ferrea</i> - 87 fração 1X	2.569	2,56 x 10 ⁸
	<i>A. ferrea</i> -87 fração +	620	0,62 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94 fração 1X	3.899	3,89 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94fração + 87 C+	1.054	1,05 x 10 ⁸
48	<i>A. ferrea</i> - 87 fração 1X	2.342	2,34 x 10 ⁸
	<i>A. ferrea</i> -87 fração +	178	0,17 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94 fração 1X	2.989	2,98 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94fração + 87 C+	908	0,90 x 10 ⁸
54	<i>A. ferrea</i> - 87 fração 1X	1.987	1,98 x 10 ⁸
	<i>A. ferrea</i> -87 fração +	78	0,07 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94 fração 1X	4.984	4,98 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94fração + 87 C+	3.321	3,32 x 10 ⁸
60	<i>A. ferrea</i> - 87 fração 1X	3.458	3,45 x 10 ⁸
	<i>A. ferrea</i> -87 fração +	0	0,00 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -87 fração 1X	4.562	4,56 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -87 fração + 87 C+	567	0,58 x 10 ⁸
66	<i>A. ferrea</i> - 87 fração 1X	2.652	2,65 x 10 ⁸
	<i>A. ferrea</i> -87 fração +	0	0,00 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94 fração 1X	2.987	2,98 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxyllum</i> -94fração +	567	0,56 x 10 ⁸

	87 C+	0	0,00 x 10 ⁸
72	<i>A. ferrea</i> - 87 fração 1X	3.432	3,43 x 10 ⁸
	<i>A. ferrea</i> -87 fração +	0	0,00 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxylum</i> -94 fração 1X	3.234	3,23 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxylum</i> -94 fração +	453	0,45 x 10 ⁸
	87 C+	0	0,00 x 10 ⁸
78	<i>A. ferrea</i> - 87 fração 1X	3.563	3,56 x 10 ⁸
	<i>A. ferrea</i> -87 fração +	0	0,00 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxylum</i> -94 fração 1X	3.569	3,56 x 10 ⁸
	<i>O. leucoxylum</i> -94 fração +	345	0,34 x 10 ⁸
	87 C+	0	0,00 x 10 ⁸

Tabela 17: Quantificação das unidades formadoras de colônias das frações em diclorometano de *Aniba ferrea* e *Ocotea leucoxylum*; frente a *Staphylococcus aureus* (87); *Staphylococcus simulans* (94); apenas com a dose inicial (fração 1x); Doses subsequentes (fração +); Incontáveis (IN); Controles da droga-Imipenem/Cilastatina sódica –TIENAM (C+).

5.4 Avaliações preliminares da atividade antimalárica (IN VITRO)

Para realização dos testes antimalárico optou-se em realizar o teste apenas com os noventa e seis extratos das vinte e cinco espécies de plantas frente a cepa 3D7.

E das vinte cinco (25) espécies avaliadas nos testes preliminares, observou-se atividades em três (3) extratos de *Theobroma grandiflorum* (Cupuaçu), em dois (2) extratos de *G. madruno* (bacurizinho) um (1) extratos de *Euterpe precatória*, um (1) extrato de *P. insignis* (Bacuri) e (Figura 13).

Como podemos observar na Figura 13, os extratos etanólicos das sementes *E. precatória*, *P. insignis*, *G. madruno* e o extrato etanólico das cascas de *G. Madruno* também apresentou elevada inibição do crescimento parasitário de *P. falciparum* na concentração de 50ug/ml (61,59%; 72,46%; 79,45%; 78,53%) respectivamente, Kruskall Wallis $p < 0,001$). Entretanto, somente os extratos etanólicos de *E. Precatória* e *P. insignis* apresentaram inibição do crescimento parasitário na menor dose avaliada que foi de 12,5ug/ml (14,50% e 60,39%), respectivamente; Kruskall Wallis, $p < 0,001$ e $p < 0,05$, respectivamente).

Os extratos de *T. Grandiflorum* apresentaram atividade antimalárica menos expressiva que os demais na concentração de 50ug/ml, sendo que o extrato etanólico, hidroalcoólico e metanólico apresentaram inibição de 24,24%; 23,11% e 20,99% (Kruskall Wallis, $p < 0,001$ para o extrato etanólico e hidroalcoólico e $p < 0,05$ para metanólico) respectivamente. Na concentração de 12,5 ug/ml somente os extratos Etanólico e metanólico das sementes apresentaram atividade antimalárica (12,20% e 17,21%), respectivamente, Kruskall Wallis $p < 0,05$) (Figura 13).

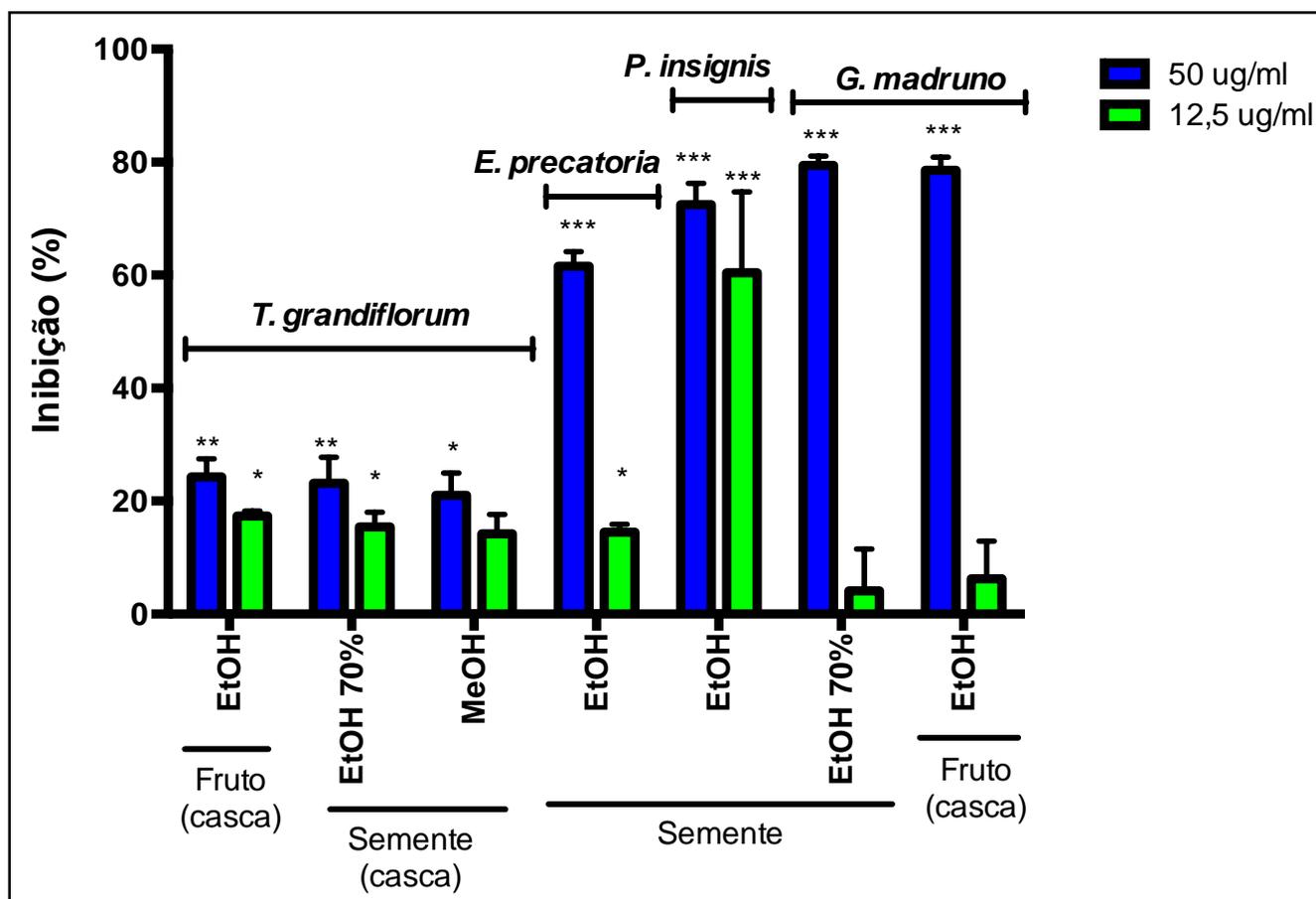


Figura 13: Inibição antimaláricos dos extratos de *Theobroma grandiflorum*, *Euterpe precatória*, *G. madruno* e *P. insignis*.

5.5 Ensaio e citotoxicidade *IN VITRO*

Foram submetidos ao teste de citotoxicidade frente a linhagem de fibroblasto humano MRC5 os 29 extratos, 13 frações e um 1 isolado que apresentaram alguma atividade nos testes antimicrobianos, antifúngico e antimalárico. Como podemos verificar na Figura 14 estão representadas a viabilidade (100% em relação ao controle) dos extratos, frações e isolados, das espécies da família de Lauracea. Quando avaliada a viabilidade dos extratos de folhas e galhos de *A. panurensis*, observa-se que nenhum extrato apresentou toxicidade à célula MRC5 (Kruskall Wallis, $p>0,05$). Já ao observarmos as frações desta espécie, podemos verificar uma elevada toxicidade da fração diclorometano dos galhos, sendo a viabilidade de apenas 7,35% (Kruskall Wallis, $p<0,05$). O composto isolado de *A. panurensis* também não foi citotóxico a linhagem celular testada (Kruskall Wallis, $p>0,05$). Quando avaliados os extratos e frações das espécies de *A. ferrea* e *A. parviflora* também não foram citotóxicos. Já a fração metanólica dos galhos de *A. Guianensis* mostrou-se levemente tóxica a este tipo de célula, apresentando viabilidade de 63,7% (Kruskall Wallis, $p<0,01$) (Figura 14).

E quando avaliado a viabilidade dos extratos das folhas e galhos do gênero *Licaria* nenhum dos extratos apresentou toxicidade à célula MRC5 (Kruskall Wallis, $p>0,05$) (Figura 14). Já o extrato etanólico dos galhos de *O. leucoxyton* mostrou-se levemente tóxico a este tipo celular (Kruskall Wallis, $p<0,01$). Porém a fração não apresentou toxicidade (Kruskall Wallis, $p>0,05$) (Figura 14).

E quando avaliados os extratos etanólicos das cascas, polpas de *C. villosum*, observa-se que nenhum extrato apresentou toxicidade à célula MRC5 (Kruskall Wallis, $p>0,05$). Somente o extrato hidroalcoólico das sementes que apresentou uma pequena citotoxicidade frente a célula testada (Kruskall Wallis, $p<0,01$) (Figura 15).

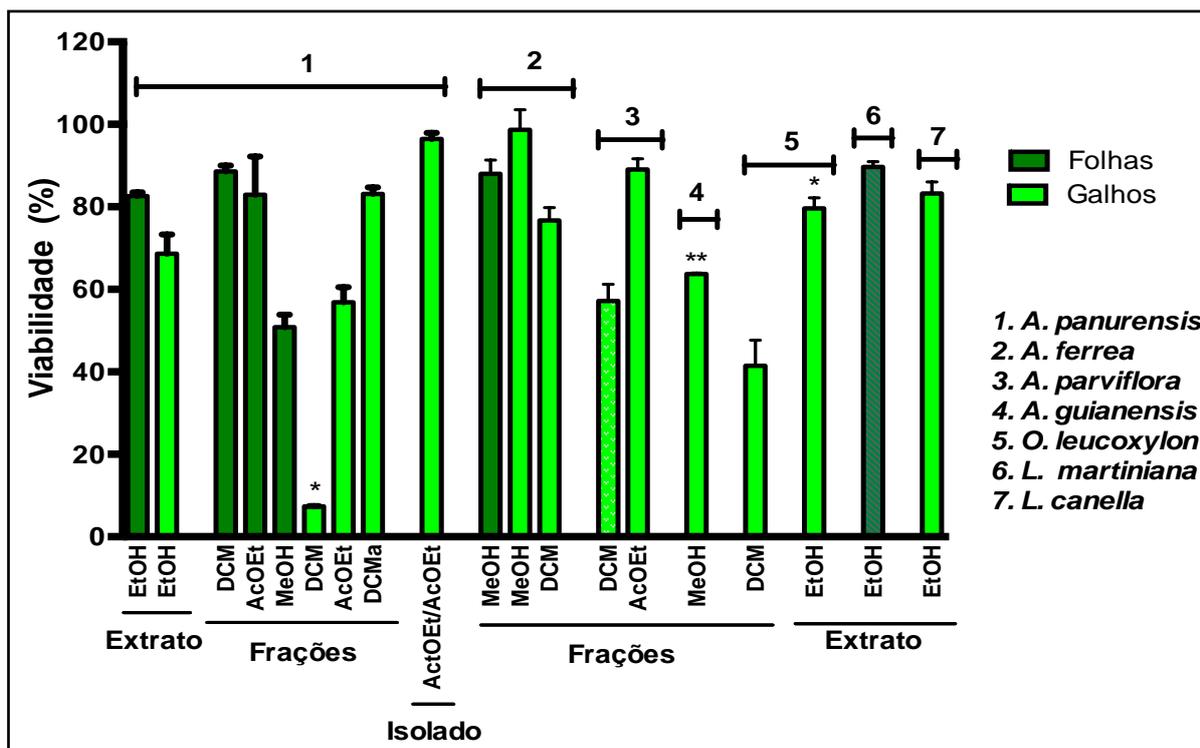


Figura 14: Inibições dos extratos brutos e frações e isolados de *Aniba panurensis*, *Aniba ferrea*, *Aniba parviflora*, *Aniba guianensis*, *Licaria martiniana*, *Licaria cannella angustata*, *Ocotea leucoxyton* frente a a linhagem de célula normal MRC5 (fibroblastos de pulmão humano).

E quando a viabilidade dos extratos etanólicos e hidroalcoólicos das sementes, cascas e mesocarpo de *E. precatória*, *E. oleracea*, *I. edulis*, *G. madruno* e *P. insignis*, nenhum dos extratos apresentou toxicidade à célula MRC5 (Kruskall Wallis, $p > 0,05$) (Figura 15) inibição de (%). E também os extratos das cascas dos frutos e as cascas das sementes de *Theobroma grandiflorum* não demonstraram toxicidade à célula MRC5 (Kruskall Wallis, $p > 0,05$), respectivamente (Tabela 15).

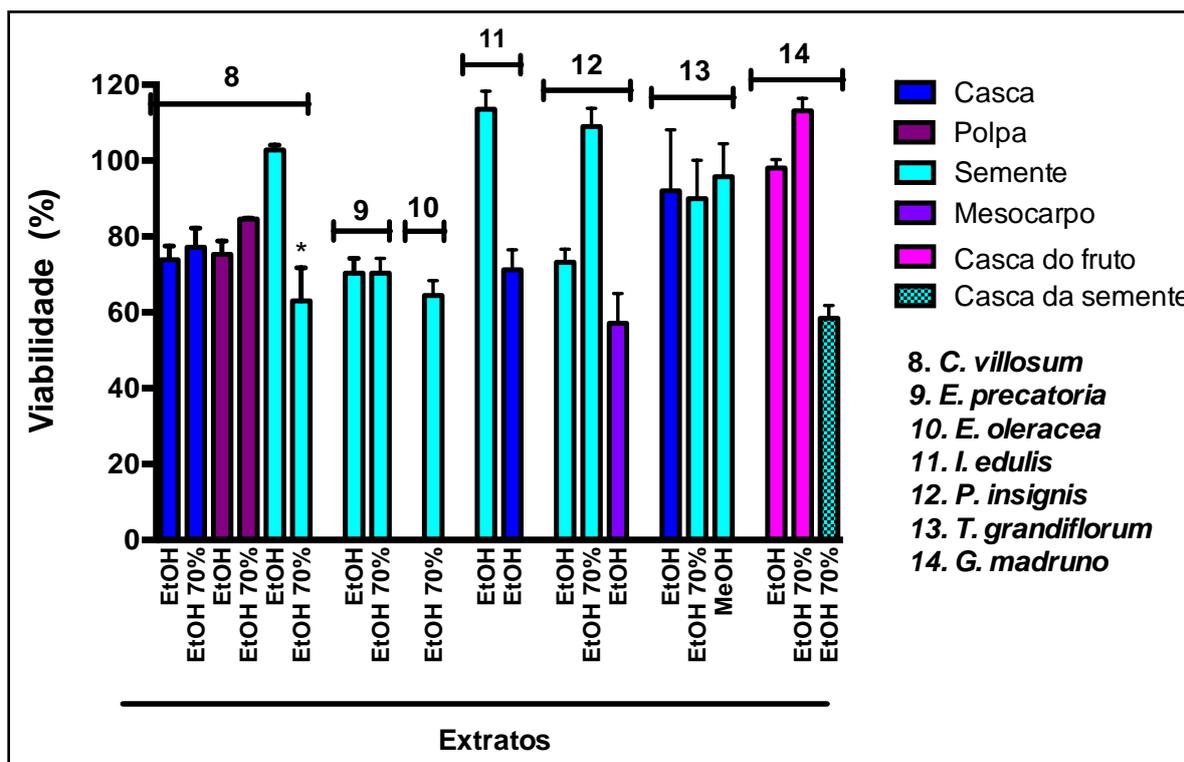


Figura 15: Inibição dos extratos brutos de *Caryocar villosum*, *Euterpe precatória*, *Euterpe oleracea*, *Inga edulis*, *Garcinia madruno*, *Platonia insignis*, *Theobroma grandiflorum*, frente a linhagem de célula normal MRC5 (fibroblastos de pulmão humano).

E quando avaliados a viabilidades dos extratos em metanol, Éter etílico, Hexano das folhas, galhos finos, galhos grossos e cascas da espécie *P. klugii*. Observa-se que os extratos das folhas, galhos grossos e galhos filhos não apresentou toxicidade à célula MRC5 (Kruskall Wallis, $p > 0,05$), apresentando viabilidade de (76,48%; 97,73%; 88,21%) respectivamente. Somente os extratos das cascas em hexano e éter apresentaram citotoxicidade frente a célula testada (Kruskall Wallis, $p < 0,01$) morte de 67,25% a 30,35% (Figura 16).

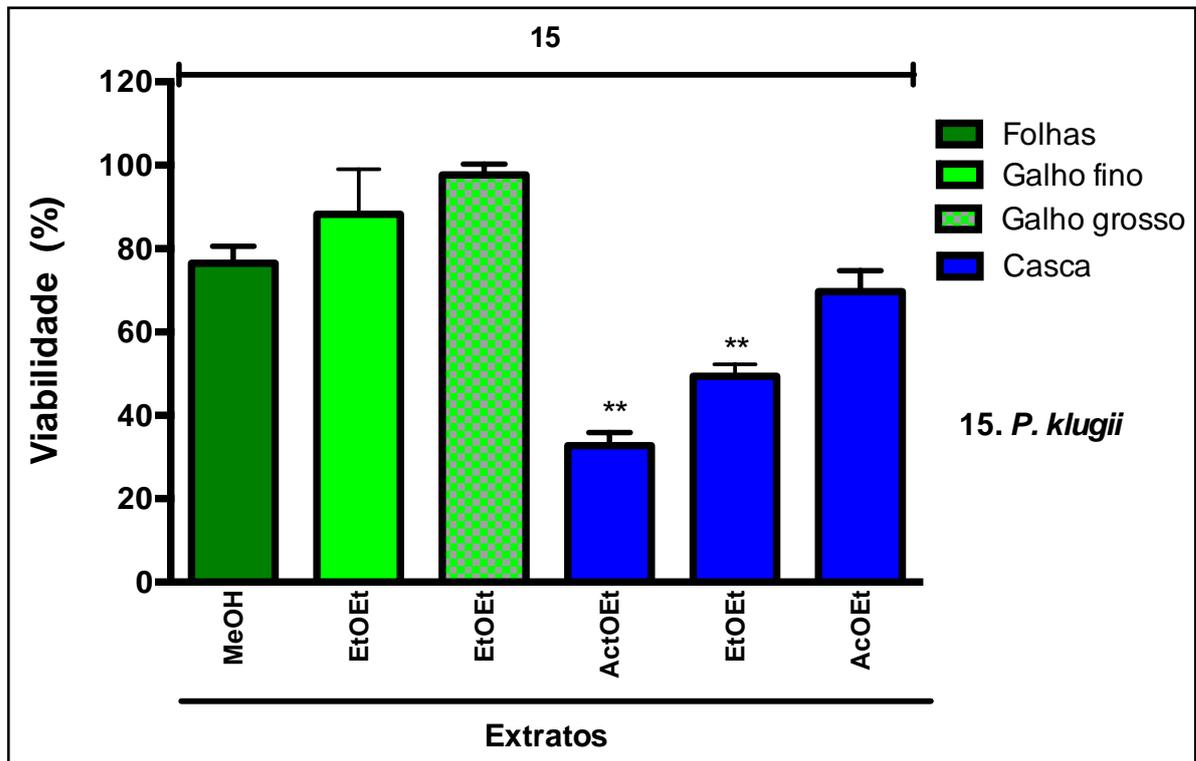


Figura 16: Inibição dos extratos brutos de *Protium Klugii* frente a a linhagem de célula normal MRC5 (fibroblastos de pulmão humano).

5.6 Resultado geral

Assim, das vinte e cinco (25) espécies de plantas submetidas a triagem antimicrobiana, apenas 15 espécies apresentaram atividades. E destas 15 espécies de plantas que apresentaram atividades, a espécie *C. villosum* apresentou atividade contra as 8 bactérias Gram-negativas, 8 bactérias Gram-positivas e *C. albicans*, mas não demonstrou atividades contra *P. falciparum*. As espécies que apresentaram atividades contra todos os grupos de micro-organismos foram *E. precatória*, *I. edulis*, *G. madruno*.

Plantas	Nome comum	Bactérias Gram-negativas								Bactérias Gram-positivas								P.F		
		EC	YE	AS	SC	ST	SF	SD	AB	BL	BS	AS	SP	SPY	MRSA	SM	AS		CA	
<i>Caryocar villosum</i>	PIQUIÁ	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
<i>Euterpe precatória</i>	Açaí			■	■							■						■	■	■
<i>Euterpe oleracea</i>	Açaí																	■	■	■
<i>Inga edulis</i>	Ingá	■										■						■	■	■
<i>Garcinia madruno</i>	Bacurizinho	■	■									■						■	■	■
<i>Platonia insignis</i>	Bacuri											■						■	■	■
<i>Protium klugii</i>					■										■			■	■	■
<i>A. Panurensis</i>										■		■	■	■	■	■	■	■	■	■
<i>A. ferrea</i>					■													■	■	■
<i>A. parviflora</i>					■							■						■	■	■
<i>A. guianensis</i>					■													■	■	■
<i>O. leucoxyton</i>												■						■	■	■
<i>L. martiniana</i>																			■	■
<i>L. cannella angustata</i>																			■	■
<i>T. grandiflorum</i>	Cupuaçu																			■

Tabela 18: Sumário dos extratos e frações com atividade antimicrobiana: *E.coli* (EC); *Y. enterocolítica* (YE), *S. arizonae* (SA); *S. choleraesuis* (SC); *S. typhi* (ST); *S. flexnerie* (SF); *S. desenteriae* (SD); *A. baumannii* (AB); *B. liquiniformes* (BL); *B. subtilis* (BS); *B. subtilis* (BS); *S. agalactiae* (AS); *S. parasanguinis* (SP); *S. pyogenis* (SPY); *S. simulans* (SS); *S. aureus* (SA); *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) - fungo: *C. Albicans* (CA) – *Plasmodium falciparum* (PF).

■	Positivo
□	Negativo

6. DISCUSSÃO

A procura por novas drogas de origem vegetal é de suma importância, tendo em vista o grande aumento de infecções e o aparecimento de resistência aos antimicrobianos pelos seus agentes etiológicos. Estes produtos devem ser eficazes e economicamente viáveis para combater infecções causadas por micro-organismos multirresistentes (MARTEL et al, 2010; MARRA et al, 2011; CLEVELAND et al, 2012; PHYO et al, 2012; LIU et al, 2013; RUBIO et al, 2013; WORLD et al, 2014a; JENSEN et al, 2015; TALUNDZIC et al, 2015). Com isto, este trabalho teve como objetivo avaliar diversos extratos e frações em diferentes solventes, proveniente de vinte e cinco espécies de plantas amazônicas contra 37 cepas bacterianas, uma cepa de *C. albicans* e uma cepa de *P. falciparum*. Das vinte cinco espécies de plantas, quinze apresentaram atividades, sendo que onze apresentaram atividades frente as bactérias Gram-positivas, nove contra as Gram-negativas, nove apresentaram atividades contra *C. albicans* e quatro contra *P. falciparum*.

Os extratos de *C. villosum* demonstraram excelentes resultados no teste de difusão em ágar frente a sete Gram-positivas, sete Gram-negativas e *C. albicans*. Quando submetidos ao teste de CIM, os extratos etanólico das polpas e hidroalcoólico das sementes, continuaram demonstrando excelente resultados frente a *S. choleraesuis* e *S. pyogenes*. Os demais extratos variaram frente a *B. liquiniformes*, *B. subtilis*, *S. agalactiae*, *S. pyogenes*, *S. simulans*, *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *S. arizonae*, *S. choleraesuis*, *S. typhi* e *S. flexneri*. Com relação a atividade antimalárica, não foi possível verificar inibição. E quando avaliados a viabilidade dos extratos bioativos frente a celular MRC5 foi demonstrado citotoxicidade apenas no extrato hidroalcoólico das sementes (Figura15), e um agente quimioterápico para ser efetivo no tratamento de uma doença infecciosa, deve exibir uma toxicidade seletiva, ou seja, inibir os micro-organismos que estão causando as infecções, mas deve ser inofensivo ao homem ou animais (MEYER et al, 1982; JUNIOR et al, 2005). Na literatura não foram descritos quaisquer relatos envolvendo atividades antifúngica e antimalárica dos extratos da espécie *C. villosum*. Os únicos relatos envolvendo avaliação da atividade de *Caryocar villosum* foram apresentados por (MAGID et al 2006; ASCARI et al 2013), nos quais foram testadas quatorze saponinas triterpenóides provenientes dos extratos dos frutos de *C. villosum* frente a *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Mycobacterium smegmatis* e *E. faecalis*; entretanto nenhum dos compostos apresentaram qualquer atividade

antimicrobiana, a uma dose de 50 µg/mL. Estes resultados negativos, diferentes dos encontrados neste estudo, podem estar associados à concentração inicial empregada, pois trata-se de uma concentração inferior a encontrada neste estudo. Mas seguindo os critérios sugeridos por HOLETZ e colaboradores (2002), essa espécie demonstrou excelentes resultados no presente estudo, o que leva essa espécie a ser uma promissora fonte de substâncias eficazes na inibição de bactérias Gram-positivas, e com relevante destaque contra as Gram-negativas, que são os principais patógenos responsáveis pelas infecções nosocomiais e associadas com multirresistência aos antimicrobianos (MARRA et al, 2011; VLIEGHE et al, 2013; RUBIO et al, 2013; WORLD, 2014a). Nos testes preliminares contra o fungo *C. albicans* os diâmetros de todos os extratos ativos foram superiores ao quimioterápico Fluconazol usado como referência para avaliar a sensibilidade de *C. albicans* (NENOFF et al, 1999; PFALLER et al, 2012a), portanto os mesmos se apresentaram como uma alternativa promissora à droga padrão. Mesmo com a atividade identificada sobre *C. albicans* no teste de difusão em ágar, nenhuma das amostras desta planta, foi capaz de inibir o fungo até 1000µg/mL, presume-se que nesta concentração os extratos não contenham os constituintes ativos em concentração suficiente para provocar a inibição microbiana. Diante desses resultados pode-se afirmar que este é o primeiro estudo amplo de avaliação da atividade antibacteriana, antifúngica e antimalárica dos extratos *C. villosum*.

A espécie de *G. madruno* demonstraram bons resultados no teste de difusão em ágar frente a quatro bactérias Gram-positivas e uma bactéria Gram-negativa (Tabela 9). Porém nos testes de CIMS, apenas os extratos etanólicos e hidroalcoólicos das cascas e o extrato hidroalcoólicos das sementes tiveram atividade contra *S. simulans* e *C. albicans* (Tabela 13). Quando submetidos os mesmos extratos ao teste preliminar frente a cepa de *P. falciparum*, observou-se resultado positivo para os extratos das sementes (EtOH:70%) e cascas dos frutos (EtOH). Na literatura são escassos os estudos de atividade antimicrobiana desta espécie, sendo encontrado apenas o trabalho de SVETAZ et al, (2010), o qual foram avaliadas atividades antifúngicas e não demonstrou atividade contra *C. albicans*. Ao contrário do presente estudo em que os extratos das sementes e cascas inibiram até a concentração de 500 µg/mL (Tabela 13).

Quanto aos extratos de *P. insignis*, estes demonstram atividades moderadas frente *B. liquiniformes*, *B. subtilis* e *C. albicans* nos testes de difusão, porém quando submetido ao teste de CIM a melhor atividade foi observada no extrato das sementes frente ao *B. subtilis*, os demais extratos não foram capazes de inibir nas concentrações < 1000 µg/mL (Tabela 13). O mesmo extrato demonstrou relevante atividade frente a cepa de *P. falciparum*, sendo que as porcentagens de inibições foram similares nas concentrações de 50 e 12,5 µg/mL (Figura 13). E ainda são escassos estudos de atividade antibacteriana e antimalárica para esta planta, entretanto existem vários estudos que comprovam que o óleo da semente e diversas partes das plantas são bastante utilizados na medicina popular para tratar doenças diarreicas (COSTA JÚNIOR et al, 2013a; Costa Júnior et al, 2013b). Outros estudos apresentam resultados relevantes contra *Leishmania* (SOUZA et al, 2010). SILVA e colaboradores (2015) avaliaram a atividade de Garcinielliptona (GFC) que é uma benzofenona preniladas natural encontrada nas sementes de *P. insignis*, sendo está avaliada frente *Schistosoma mansoni* com relevante atividade frente a esse helminto. Sabe-se que o GFC tem várias atividades biológicas, tais como propriedades antioxidantes e vaso-relaxantes. Essa substância presente nas sementes de *P. insignis*, pode estar associada a inibição dos extratos das sementes de *P. insignis* frente aos micro-organismos encontrados nesse trabalho. Quando testados a viabilidade dos extratos todos os extratos bioativos das espécies de *G. madruno* e *P. insignis* não apresentaram citotoxicidade a célula MRC5 (Figura 15).

Os extratos das sementes e cascas da espécie de *Inga edulis* inibiu pequena atividade em duas bactérias Gram-positivas *B. subtilis*, *S. simulans*; entretanto frente a *E. coli* e *C. albicans* demonstrou inibições moderadas; quando submetida ao teste de concentração inibitória mínima os melhores resultados foram frente a *C. albicans* seguido de *E. coli*, os demais extratos não foram capazes de inibir as demais cepas na concentração de 1mg/mL (Tabela 13). No trabalho de SILVA (2012) foram avaliados a atividade dos extratos das folhas de *Inga edulis* frente as cepas de *S. aureus* na concentração de 50 mg/mL, e a partir dessa concentração foi possível observar halos de inibição que variaram de 14 a 15 mm frente as duas cepas testadas, o que não se relaciona com os achados do presente estudo, no qual não foi observada atividade frente a esse patógeno; essa pequena inibição encontrada pode está associada a concentração inicial empregada, pois tal concentração foi superior à do

presente estudo. No estudo de GACHET e colaboradores (2010) foram avaliados 140 extratos provenientes de 39 espécies de plantas e dentre as espécies avaliadas se encontrava *I. edulis*; esses extratos foram testados *in vitro* contra *Leishmania donovani*, *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei rhodesiense* e *Trypanosoma cruzi*. Além disso, estes extratos foram avaliados quanto às suas atividades antimicrobianas contra *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, bem como contra *C. albicans*. Nenhum dos resultados envolvendo esta espécie foram considerados positivos, podendo estes estarem associados a concentração empregada ou critérios metodológicos utilizados pelos autores. Mesmo havendo poucos estudos que explorem atividades antimicrobianas, existem diversos estudos que comprovam diversas outras propriedades farmacológicas dessa espécie (SILVA et al, 2007a; SILVA et al, 2007b; POMPEU et al, 2012). Este estudo comprova que os extratos de cascas e semente de *Inga edulis* apresentam alguma substância que inibem as bactérias *B. subtilis*, *S. simulans*, *E. coli* e *C. albicans* e apesar dos resultados obtidos serem mais efetivos frente ao fungo *C. albicans*, alguma substância presente nos extratos das cascas e sementes tem atividade contra bactérias Gram-positivas e bactéria Gram-negativa.

Quando avaliados as três espécies da família Arecaceae (*E. precatória*, *E. oleracea* e *M. flexuosa*). Os extratos de *E. Precatória* apresentaram atividades de moderada a boa atividade no teste de difusão contra as *B. subtilis*, *S. simulans*, *S. aureus*, *S. arizonae*, *S. choleraesuis* e *C. albicans* (Tabela 9). A boa atividade contra *S. choleraesuis* foi confirmada no teste de CIM demonstrando seu grande potencial pela especificidade ao gênero *Salmonella* visto que são escassos os estudos envolvendo a *E. precatória*.

O extrato das sementes de *E. oleracea* apresentou uma pequena atividade contra *S. simulans*, *S. aureus* e *C. albicans*, porém não com as Gram-negativas. Com resultados divergentes ao presente estudo, GONÇALVES et al, (2012), os quais avaliaram os extratos de *E. oleracea* contra as bactérias Gram-positivas: *S. aureus*, *S. epidermidis* e Gram-negativas: *P. aeruginosa* e *E. coli*, além de *C. albicans*. Porém nenhum dos micro-organismos testados demonstraram sensibilidade. Em nosso estudo *S. aureus* e *C. albicans*, apresentaram uma pequena sensibilidade, com relação às Gram-negativas o resultado foi semelhante, com ausência de sensibilidade aos extratos. FILHO & PEREIRA, (2012) testaram os óleos das sementes de *E. oleraceae*

(açai), foi demonstrado efeito inibitório frente à *S. aureus*. Ainda verificou-se que em nenhuma das amostras apresentaram atividades inibitória frente a *P. aeruginosa*. Apesar dos extratos obtidos neste trabalho serem de partes distintas, os resultados são similares.

Os extratos da espécie de *M. flexuosa* L. (Buriti) foram inativos contra todos os patógenos testados neste estudo. Contrapondo o resultado de BASTISTA et al, (2012), que avaliou o óleo de *Mauritia flexuosa* L. (Buriti) e foi demonstrado atividades antibacteriana de *Enterobacter aerogenes* ATCC 1304, *B. subtilis* ATCC 6633, *K. pneumoniae* ATCC 10031 e *S. aureus* ATCC 6538 e os halos de inibição foram (8,7 mm), *E. aerogenes*, (16,5 mm), *B. subtilis*, (15 mm), *K. pneumoniae* e *S. aureus* (11,1 mm). O mesmo foi observado no trabalho de KOOLEN et al, (2013), o qual avaliaram os extratos das folhas, tronco e frutos de *Mauritia flexuosa* L. (Buriti) frente a *E. coli* (ATCC 87064), *S. aureus* (ATCC 25923), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *Micrococcus luteus* (ATCC 4698) e *B. cereus* (ATCC 14579) e foram demonstradas atividades antimicrobianas contra *S. aureus* e *P. aeruginosa* (50 ug/mL) e *M. luteus* (200µg/mL), ao contrário do nosso estudo no qual não foi possível verificar nenhuma atividade relevante. Porém em um estudo recente feito SIQUEIRA et al, (2014), foram avaliadas as atividades antimicrobianas dos extratos e frações das folhas e caules de *Mauritia flexuosa* L.; contra *S. aureus* sensível à metilina e MRSA. Apenas as frações apresentaram atividades contra as duas cepas testadas. Esses autores encontram resultados similares aos encontrados neste estudo para os extratos, visto que os extratos avaliados neste estudo também não apresentaram atividades frente a essas cepas. Os diferentes resultados encontrados para essa espécie podem está relacionado com a ausência dos compostos ativos, presença de compostos de baixa polaridade ou ainda devido ao modo de preparação dos extratos, partes distintas utilizadas ou sazonalidade (NAZIF, 2002). Mesmo com diversos relatos de atividades antimicrobiana e antifúngica das espécies de *Euterpe oleraceae* e *Mauritia flexuosa*, ainda são raros os estudos antifúngicos e antimaláricos envolvendo a espécie *Euterpe precatória*. Todos os extratos bioativos das espécies de *E. precatória* e *E. oleracea* não apresentaram citotoxicidade a célula MRC5 (Figura 15).

Quando avaliados os extratos das duas espécies *T. grandiflorum* e *T. subincanum*, frente as 37 cepas bacterianas e *C. albicans*, não foi possível verificar nenhuma atividade. Em contrapartida os dois extratos das cascas das sementes e o

extrato das cascas dos frutos de *T. grandiflorum*, apresentaram especificidade contra o *P. falciparum* (Figura 13). E esses extratos bioativos não apresentaram citotoxicidade a célula MRC5, demonstrando um grande potencial contra um patógeno virulento e que frequentemente desenvolve quimiorresistência às drogas antimaláricas (MITA & TANABE, 2012; PHYO et al, 2012; BIAMONTE et al, 2013; TALUNDZIC et al, 2015).

Este estudo foi o primeiro a avaliar extratos, frações e isolado composto de sete espécies da família Lauracea (*A. panurensis*, *A. ferrea*, *A. guianensis*, *A. parviflora*, *L. martiniana*, *L. canella angustata* e *O. leucoxylon*). Todos os extratos etanólico de folhas e galhos de *A. panurensis* foram muito ativos contra *B. subtilis*; *S. aureus*, MRSA, *S. simulans* e *A. baumannii* nos ensaios de difusão e MIC (Tabela 10 e 14). Quando avaliadas as frações, observou-se melhores resultados nas frações de galhos e folhas em DCM frente *S. aureus*, MRSA, *S. simulans* e fração em acetato de etila frente *S. aureus*. Ao realizamos o teste de curva de morte das frações é possível observar que estas frações possuem inibições bacteriostáticas frente a *S. aureus*, MRSA, *S. simulans* (Figura 3 a 10). As ações bacteriostáticas foram confirmadas nos testes de UFC para as frações de galhos e folhas em diclorometano (Tabela 15 e 16). Já as frações em acetato de etila apresentou efeito bactericida a partir de 60 horas frente a *S. aureus* (Tabela 17). Com este resultado é possível observar que alguma substância presente nas frações de diclorometano e acetato de etila, estão atuando frente as cepas de *S. aureus*, MRSA e *S. simulans*, principalmente entre as fases mais críticas, onde ocorrem as multiplicações das bactérias (STROHL et al, 2004; DRAWZ & BONOMO, 2010). Essa inibição aumenta quando aplicadas as doses subsequentes, mas dentre esses intervalos, é possível observar que tais frações continuam apresentando inibição mais acentuada a partir do intervalo de 60 horas, chegando a inibição similares ao controle da droga. O isolado de *A. panurensis* também demonstrou boa atividade frente as mesmas bactérias no teste de difusão e CIMs (Tabela 10 e 14). Estes resultados são muito promissores pois o isolado manteve as características bioativas já apresentadas pelas frações. Mais apesar da excelente atividade bacteriana da fração dos galhos em diclorometano de *A. panurensis*, essa fração apresentou uma elevada toxicidade a célula MRC5, sendo a viabilidade de apenas 7,35% (Figura 14). Porém as demais frações não apresentaram toxicidade, o mesmo ocorreu com os extratos e isolado (Figura 14).

Outras frações que demonstraram bons resultados nos testes de difusão em ágar e CIMs foram as frações em diclorometano de galhos de *A. ferrea* e *O. leucoxyton* frente a *S. aureus* e *S. simulans* (Tabela 10 e 14). Quando submetido a curva de morte observa-se que as frações dos galhos de *A. ferrea* apresentaram boa atividade bactericida contra *S. aureus* e não apresentaram citotoxicidade a célula MRC5, em contrapartida a fração extraída de galhos de *O. leucoxyton* tiveram boa atividade bacteriostática contra *S. aureus*, mas apresentou citotoxicidade. Em contrapartida nem um dos extratos das sete espécies de lauracea inibiu a cepa de *P. faciparum*. Estudos envolvendo tais espécies são raras, e na literatura sendo encontrado um único estudo de atividades antimicrobianos da espécie de *A. panuresis* KLAUSMEYER et al, (2004) isolaram o alcalóide 6,8-dideca- (1Z)-enil-5,7-dimetil-2,3-diidro-1H-indolizinium a partir da espécie *A. panurensis*. Tal alcalóide foi testado frente as bactérias *Enterococcus faecalis* e *S. aureus* e fungos *C. albicans*, *C. neoformans*. No entanto, foi observada uma inibição potente (CIM equivalente a 0,25 µg/mL) somente contra *Candida albicans*. Frente a bactéria *S. aureus*, a inibição não foi considerada eficaz, ao contrário do presente trabalho em que o resultado foi considerado um ótimo resultado. Os resultados demonstraram que os extratos, frações e isolado obtidos de componentes dos gêneros *Aniba*, *Licaria* e *Ocotea*, da família da Lauracea tem especificidade contra bactérias Gram positivas, provavelmente com efeito sobre a parede celular (TORTORA, 2012; MURRAY et al, 2014). Mas apesar do excelente achado para essas espécies de plantas, ainda são raros os estudos, visando avaliar a atividade antibacteriana, antifúngica e antimalárica dos extratos, frações e isolados pertencentes a essas espécies, e dentre os diversos relatos, todos estão relacionados ao gênero *Ocotea*. Assim, este foi o primeiro estudo em que foi realizada ampla avaliação da atividade antibacteriana e antimalárica de extratos, frações e composto isolado para espécies pertencentes aos gêneros *Aniba*, *Licaria* e *Ocotea*. Em resumo, nossa prospecção indicou potenciais agentes bactericidas e bacteriostáticos que poderão ser testados para avaliar a eficácia e viabilidade econômica, visando a descoberta de novos fármacos para combater infecções causadas por micro-organismos multirresistentes (MUELLER et al, 2009; CEREDA et al, 2011; MITA & TANABE, 2012; BIAMONTE et al, 2013; VINCENT et al, 2013; PACKARD, 2014; REN et a, 2014; WORLD, 2014a; JENSEN et al, 2015; GUO et al, 2015; SAID, et al, 2015).

7. CONCLUSÕES

A metodologia utilizada nesse estudo, que teve como ponto de partida uma triagem de extratos, frações e isolado de espécies em potencial, frente a micro-organismo mais comumente associada a doenças em humanas, foi eficiente para se alcançar os objetivos propostos. Dessa forma obteve-se:

✓ Os resultados encontrados na triagem Antibacteriana dos 96 extratos, 37 frações e um isolado composto, proveniente das vinte e cinco espécies estuda, obteve-se resultados mais promissoras:

Todos os extratos de *Caryocar villosum* mostraram atividade contra as bactérias Gram-positivas *B. liquiniformes*, *B. subtilis*, *S. agalactiae*, *S. pyogenis* e Gram-negativas *Y. enterocolítica*, *S. arizonae*, *S. choleraesuis*, *S. typhi* e *S. Flexneri*.

Outras amostras que demostram excelente atividades foram os extratos e frações e isolado composto de *A. panurensis* frente as bactérias Gram-positivas *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. aureus resistente a meticilina*, *S. simulans* e *S. agalactiae*.

✓ As frações em diclorometano dos galhos de *A. ferrea*, *O. leucoxylon* frente *S. aureus* e *S. simulans* e a fração em acetato de etíla dos galhos de *A. parviflora* frente *S. simulans*.

✓ As frações em DCM dos galhos de *A. ferrea* e *O. leucoxylon* frente *S. aureus* e *S. simulans* e a fração em acetato de etíla dos galhos de *A. parviflora* frente *S. simulans*.

✓ Na triagem da atividade antifúngica dos 96 extratos, os melhores resultados obtidos, foram para o extrato etanólico das sementes de *I. edulis* e o extrato etanólico das cascas e o extrato hidroalcoólico das sementes de *G. madruno* e extrato etanólico dos galhos de *O. leucoxylon*.

✓ Na triagem contra *P. falciparum* os melhores resultados foram demonstrados nos extratos de *T. grandiflorum*, *E. precatória*, *G. madruno* e *P. insignis*.

✓ No teste de curva de morte, todas as frações de *A. panurensis*, *A. ferrea* e *O. leucoxyllum* apresentaram atividades bacteriostáticas frente a *S. aureus*, *S. simulans* e MRSA. Essas mesmas frações foram submetidas ao teste de dosagem para verificar a eficácia das frações. Obteve-se bons resultados com as frações + a partir das 18 horas, levando a diminuição ou manutenção do inoculo bacteriano aplicado.

✓ No teste de citotoxicidade, os melhores resultados foram obtidos com todos os extratos bioativos de *T. grandiflorum*, *I. edulis*, *G. madruno*, *P. insignis*, *E. precatória* e *E. oleracea*, pois nem um dos extratos apresentou toxicidade à célula MRC5. Também foram demonstrados excelente viabilidades para os extratos de galhos e folhas de *A. panurensis*, *L. martiniana* e *L. cannella*. Das frações avaliadas obteve-se melhores inibições para as frações das folhas de *A. panurensis* e as frações de folhas e galhos de *A. ferrea*. Também foram demonstrados excelente viabilidade do isolado de *A. panurensis*. Dos extratos que não apresentaram citotoxicidade de *P. Klugii* foram folhas e galhos finos e galhos grossos.

Os dados aqui relatados é de suma importância, levando em conta a importância médica dos micro-organismos, pois fornecem evidências de que os extratos, frações e isolado possam ser considerados futuros agentes antimicrobianos ou ajudem na ação bactericida de *B. Liquiniformes*, *B. subtilis*, *S. aureus*, MRSA, *S. simulans*, *S. agalactiae*, *S. pyogenis*, *Y. enterocolítica*, *S. arizonae*, *S. choleraesuis*, *S. typhi* e *S. flexneri* e contra *C. albicans* e *P. falciparum*, pois muitos extratos apresentaram inibições em concentrações mínimas frente aos micro-organismos considerados multirresistentes e tais inibições poderiam ser eficazes em cepas sensíveis.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEWOLE, S.; OJEWOLE, J. Protective effects of *Annona muricata* Linn.(Annonaceae) leaf aqueous extract on serum lipid profiles and oxidative stress in hepatocytes of streptozotocin-treated diabetic rats. **African journal of traditional, complementary and alternative medicines**, v. 6, n. 1, 2009.
- ADJANOHOON, E. Traditional medicine and pharmacopoeia: contribution to ethnobotanical and floristic studies in Cameroon. Scientific, Technical, and Research Commission of the Organization of African Unity, 1996.
- AHMED, S. F.; KLENA, J.; HUSAIN, T.; MONESTERSKY, J.; NAGUIB, A.; WASFY, M. O. Genetic characterization of antimicrobial resistance of *Shigella flexneri* 1c isolates from patients in Egypt and Pakistan. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, v. 12, n. 9, 2013.
- ALBUQUERQUE, M. L.; GUEDES, I.; ALCANTARA, J. P.; MOREIRA, S. G.; BARBOSA NETO, N. M.; CORREA, D. S.; ZILIO, S. C. Characterization of Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) oil by absorption and emission spectroscopies. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6A, p. 1113-1117, 2005.
- AL-HEBSHI, N.; AL-HARONI, M.; SKAUG, N. In vitro antimicrobial and resistance-modifying activities of aqueous crude khat extracts against oral microorganisms. **Archives of Oral Biology**, v. 51, n. 3, p. 183-188, 2006.
- ALMEIDA S.; AMARAL, D.D.; SILVA, A. S. L. Análise florística e estrutura de florestas de várzea no estuário amazônico. **Acta amazônica, Vol. 34, Pp.513-24, 2004.**
- ALMEIDA, A. A. P. Atividade antimicrobiana de extratos e de compostos fenótipos e nitrogenados do café: Avaliação *in vitro* e em modelo alimentar. (Doutorado em ciências de alimentos) - Faculdade de farmácia da universidade Federal de Minas gerais, belo Horizonte. P. 137, 2007.
- ALMEIDA, M. R.; DARIN, J. D. C.; HERNANDES, L. C.; AISSA, A. F.; CHISTÉ, R. C.; MERCADANTE, A. Z.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. Antigenotoxic effects of piquiá (*Caryocar villosum*) in multiple rat organs. **Plant foods for human nutrition**, v. 67, n. 2, p. 171-177, 2012.
- ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado**: ecologia e flora. Brasília: Embrapa Cerrados/Embrapa Informação Tecnológica, p.351-381, 2008.
- ALONSO, J. R. Fitomedicina: curso para profissionais da área de saúde. São Paulo. Pharmabooks, 2008.
- ALONSO, J. *Tratado de fitofármacos y nutraceuticos*. Corpus Editorial y Distribuidora. Argentina, 2007.
- AQUINO, J. D. S.; PESSOA, D. C. N. P.; OLIVEIRA, C. E. V. D.; CAVALHEIRO, J. M. O.; STAMFORD, T. L. M. Processamento de biscoitos adicionados de óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L): uma alternativa para o consumo de alimentos fontes de vitamina A na merenda escolar. **Rev. nutr**, v. 25, n. 6, p. 765-774, 2012.

ASCARI, J.; TAKAHASHI, J. A.; BOAVENTURA, M. A. D. The phytochemistry and biological aspects of Caryocaraceae family. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 2, p. 293-308, 2013.

ASMUNDSDOTTIR, L. R.; ERLENDSDOTTIR, H.; GISLADOTTIR, A. L.; GOTTFREDSSON, M. Molecular epidemiology of late recurrent candidaemia—a population-based study in Iceland. **Clinical microbiology and infection**, v. 18, n. 2, p. 195-201, 2012.

ASMUNDSDOTTIR, L. R.; ERLENDSDOTTIR, H.; GOTTFREDSSON, M. Nationwide study of candidemia, antifungal use, and antifungal drug resistance in Iceland, 2000 to 2011. **Journal of clinical microbiology**, v. 51, n. 3, p. 841-848, 2013.

AUNG, T.; WHITE, C.; MONTAGU, D.; MCFARLAND, W.; HLAING, T.; KHIN, H. S. S.; SAN, A. S.; BRIEGLEB, C.; CHEN, I.; SUDHINARASET, M. Improving uptake and use of malaria rapid diagnostic tests in the context of artemisinin drug resistance containment in eastern Myanmar: an evaluation of incentive schemes among informal private healthcare providers. **Malar J. In review**, 2015.

AZEVEDO, L.; GARCIA, G.; KIM, H.; MERTENS-TALCOTT, S.; TALCOTT, S. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) Beverage Preserves Antioxidant and Endothelial Protective Properties Against Inflammatory Injuries in vitro After Pasteurization and Storage. **The FASEB Journal**, v. 29, n. 1 Supplement, p. LB355, 2015.

BALBACH, A. A. Flora Nacional na Medicina Doméstica. São Paulo: Medsi. Volume II, Vol. 12, P. 120. BALBACH, A. Plants are curative. 1972.

BARDHAN, P.; FARUQUE, A. S. G.; NAHEED, A.; SACK, D. A. Decreasing Shigellosis-related deaths without *Shigella* spp.-specific interventions, Asia. **Emerging infectious diseases**, v. 16, n. 11, p. 1718, 2010.

BARNETT, J. A.; PAYNE RW, Y. D. Yeast: Characteristics and identificação. 3
BARNETT, J. A.; PAYNE, R. W.; YARROW, D. Yeast: Characteristics and identificação. 3 rd ed. Cambridge University Press, 2000.

BARROS, E. M. L.; SOUSA LIRA, S. R.; LEMOS, S. I. A.; LUIS, T.; RIZO, M. S. Estudo do creme de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) no processo de cicatrização. **ConScientiae Saúde**, v. 13, n. 4, p. 603-610, 2014.

BARROS, L. M.; BENTO, J. N. D. C.; CAETANO, J. A.; ARAÚJO, T. M. D.; MOREIRA, R. A. N.; PEREIRA, F. G. F.; SOARES, E. Prevalência de micro-organismo e sensibilidade antimicrobiana de infecções hospitalares em unidade de terapia intensiva de hospital público no Brasil. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 3, p. 429-435, 2012.

BARROSO, G. M.; GUIMARÃES, E. F.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; PEIXOTO, A. L. Sistemática de Angiosperma do Brasil. Vol. 01, 2º Edição, EDUSP, Pp. 255, São Paulo, 2002.

BASILE, A.; FERRARA, L.; PEZZO, M.D.; MELE, G.; SORBO, S.; BASSI, P.; MONTESANO, D. *Antibacterial and antioxidant activities of ethanol extract from Paullinia cupana Mart.* **Journal of Ethnopharmacology**, v.102, n.1, p.32-36, 2005.

BASILE, A.; RIGANO, D.; CONTE, B.; BRUNO, M.; ROSSELLI, S.; SORBO, S. *Antibacterial and antifungal activities of acetonic extract from Paullinia cupana Mart. seeds.* **Natural product research**, v. 27, n. 22, p. 2084-2090, 2013.

BASSETTI, M.; MERELLI, M.; RIGHI, E.; DIAZ-MARTIN, A.; ROSELLO, E. M.; LUZZATI, R.; PARRA, A.; TRECARCHI, E. M.; SANGUINETTI, M.; POSTERARO, B.; GARNACHO-MONTERO, J.; SARTOR, A.; RELLO, J.; TUMBARELLO, M. *Epidemiology, species distribution, antifungal susceptibility, and outcome of candidemia across five sites in Italy and Spain.* **Journal of clinical microbiology**, v. 51, n. 12, p. 4167-4172, 2013.

BASTOS, F. C.; LOUREIRO, E. C. B. *Antimicrobial Resistance of Shigella spp. isolated in the State of Pará, Brazil.* **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 5, p. 607-610, 2011.

BATISTA, J. S.; OLINDA, R. G.; MEDEIROS, V. B.; RODRIGUES, C. M. F.; OLIVEIRA, A. F.; PAIVA, E. S.; FREITAS, C. I. A.; MEDEIROS, A. D. C. *Antibacterial and healing activities of buriti oil Mauritia flexuosa L.* **Ciência Rural**, v. 42, n. 1, p. 136-141, 2012.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. *Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method.* **American Journal of Clinical Pathology**, Estados Unidos, v. 45, n. 4, p. 493-495. 1966.

BELDA-GALBIS, C. M.; JIMÉNEZ-CARRETÓN, A.; PINA-PÉREZ, M. C.; MARTÍNEZ, A. RODRIGO, D. *Antimicrobial activity of açai against Listeria innocua.* **Food Control**, v. 53, p. 212-216, 2015.

BENSKY, D.; GAMBLE, A.; BENSKY, L.; KAPTCHUK, T. *Chinese Herbal Medicine Materia Medica (revised edition)* Eastland Press. **Seattle, USA**, 1993.

BENTES, M. H. S.; SERRUYA, H.; ROCHA FILHO, G. N.; GODOY, R. L. O.; CABRAL, J. A. S. *Estudo químico das sementes de bacuri.* **Acta amazonica**, v. 16, p. 363-368, 1986.

BERTRAND, X.; SLEKOVEC, C.; CHOLLEY, P.; TALON, D. *Épidémiologie des infections à Pseudomonas aeruginosa.* **Revue francophone des laboratoires**, n. 435, p. 35-40, 2011.

BIAMONTE, M. A.; WANNER, J.; LE R.; Karine G. *Recent advances in malaria drug discovery.* **Rev. Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 23, n. 10, p. 2829-2843, 2013.

BLANCO-BLANCO, M. T, GÓMEZ-GARCÍA, A. C.; HURTADO, C.; GALÁN-LADERO, M.A.; LOZANO, M. D. C.; GARCÍA-TAPIAS A.; BLANCO, M. T. *Candida*

orthopsilosis fungemias in a Spanish tertiary care hospital: incidence, epidemiology and antifungal susceptibility. **Rev. Iberoam Micol**, 2013.

BOUCHERIT-ATMANI, Z.; SEDDIKI, S. M. L.; BOUCHERIT, K.; SARI-BELKHAROUBI, L.; KUNKEL, D. *Candida albicans* biofilms formed into catheters and probes and their resistance to amphotericin B. **Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology**, v. 21, n. 3, p. 182-187, 2011.

BRASIL. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 48. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 24 de março 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Guia de Vigilância em Saúde / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília: **Ministério da Saúde**, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos. Brasília, DF, p.38, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema nacional de vigilância em saúde: **Relatório de situação: Amazonas** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – 5. Ed, p.1-38 – Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Situação epidemiológica da malária no Brasil, 2000 a 2011. **Boletim epidemiológico**, v.44, n.1, p. 1-16, 2013.

BREIDENSTEIN, E. B. M.; FUENTE-NÚÑEZ, C.; HANCOCK, R. E. W. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. **Trends in microbiology**, v. 19, n. 8, p. 419-426, 2011.

BREITBACH, U. B.; NIEHUES, M.; LOPES, N. P.; FARIA, J. E.; BRANDÃO, M. G. Amazonian Brazilian medicinal plants described by CFP von Martius in the 19th century. **Journal of ethnopharmacology**, v. 147, n. 1, p. 180-189, 2013.

BURATTO, A. P.; CARPES, S. T.; DALLA VECCHIA, P.; LOSS, E. M. S.; APPELT, P. Determinação da atividade antioxidante e antimicrobiana em castanha-do-pará (*Bertholletia excelsa*). **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v.2, n.1, p 60-65, 2011.

BUSH, K; JACOBY, G. A. Updated functional classification of β -lactamases. **Antimicrobial Agents and chemotherapy**, v. 54, n. 3, p. 969-976, 2010.

CABRINI, D. A.; MORESCO, H. H.; IMAZU, P.; SILVA, C. D.; PIETROVSKI, E. F.; MENDES, D. A. G. B.; PRUDENTE, A. D. S.; PIZZOLATTI, M. G.; BRIGHENTE, I.; COSTA, S. M.; OTUKI, M. F. Analysis of the potential topical anti-inflammatory activity of *Averrhoa carambola* L. in mice. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011.

CAI, Y.; CHAI, D.; WANG, R.; LIANG, B.; BAI, N. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, p. dks084, 2012.

CALDERONE, R. A.; CLANCY, C. J. (Ed.). *Candida* and candidiasis. **American Society for Microbiology Press**, 2011.

CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Argos, p. 500, 2001.

CAREY, A. J.; DUCHON, J.; DELLA-LATTA, P.; SAIMAN, L. The epidemiology of methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a neonatal intensive care unit, 2000–2007. **Journal of Perinatology**, v. 30, n. 2, p. 135-139, 2010.

CARNEIRO, A. L. B.; TEIXEIRA, M. F. S.; OLIVEIRA, V. M. A.; FERNANDES, O. C. C. F.; CAUPER, G. S. B.; MARTIN, A. Screening of Amazonian plants from the Adolpho Ducke forest reserve, Manaus, state of Amazonas, Brazil, for antimicrobial activity. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 1, p. 31-38, 2008.

CARVALHO, R. M. L.; MARQUES, S. G.; GONÇALVES, L. H. B.; ABREU, A. G.; MONTEIRO, S. G.; GONÇALVES, A. G. Detecção Fenotípica de metallo-beta-lactamases em isolados de *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* de pacientes hospitalizados em São Luís, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 4, 2013.

CASSONE, A. Development of vaccines for *Candida albicans*: fighting a skilled transformer. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 12, p. 884-891, 2013.

CASTRO, C. F. S.; SILVA, C. A. M.; PERFEITO, J. P.; SANTOS, M. L, RESCK, I. S.; PAULA, J. E.; SILVEIRA, D. Avaliação da Atividade antioxidante de algumas Espécies de *Pouteria*. **29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. Águas de Lindóia. 2006.

CAVALCANTE, P. B. Edible fruits of Amazonia. 6.ed. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi: CEJUP: CNPq. 279 pp., 1996.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. **Atlanta (GA): CDC**, 2013.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Turtle-associated salmonellosis in humans-United States, 2006-2007. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, v. 56, n. 26, p. 649, 2007.

CEREDA, R. F.; AZEVEDO, H. D.; GIRARDELLO, R.; XAVIER, D. E.; GALES, A. C. Antimicrobial activity of ceftobiprole against Gram-negative and Gram-positive pathogens: results from INVITA-A-CEFTO Brazilian study. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 15, n. 4, p. 339-348, 2011.

CHAVES, G. M.; DINIZ, M. G.; DA SILVA-ROCHA, W. P.; SOUZA, L. B. F. C.; GONDIM, L. A. M.; FERREIRA, M. A. F.; MILAN, E. P. Species distribution and

virulence factors of *Candida* spp. isolated from the oral cavity of kidney transplant recipients in Brazil. **Mycopathologia**, v. 175, n. 3-4, p. 255-263, 2013.

CHAVES, G. M.; SANTOS, F. P.; COLOMBO, A. L. The persistence of multifocal colonisation by a single ABC genotype of *Candida albicans* may predict the transition from commensalism to infection. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 2, p. 198-204, 2012.

CHEN, Y.; ZHOU, Z.; JIANG, Y.; YU, Y. Emergence of NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* in China. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 66, n. 6, p. 1255-1259, 2011.

CHISTE, R. C.; FREITAS, M.; MERCADANTE, A. Z.; FERNANDES, E. The potential of extracts of *Caryocar villosum* pulp to scavenge reactive oxygen and nitrogen species. **Food chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1740-1749, 2012.

CHUANG, Y. C.; SHENG, W. H.; LI, S. Y.; LIN, Y. C.; WANG, J. T.; CHEN, Y. C.; CHANG, S. C. Influence of genospecies of *Acinetobacter baumannii* complex on clinical outcomes of patients with *acinetobacter* bacteremia. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, n. 3, p. 352-360, 2011.

CLARDY, J.; WALSH, C. Lessons from natural molecules. **Nature**, v. 432, n. 7019, p. 829-837, 2004.

CLAY, J. W.; SAMPAIO, P. T. B.; CLEMENT, C. R. Biodiversidade Amazônica: Exemplos e estratégias de utilização. 1ed. Manaus: Programa de Desenvolvimento Empresarial e Tecnológicos. p. 119-131. 2000.

CLEVELAND, A. A.; FARLEY, M. M.; HARRISON, L. H.; STEIN, B.; HOLLICK, R.; LOCKHART, S. R.; MAGILL, S. S.; DERADO, G.; PARK, B. J.; CHILLER, T. M. Changes in incidence and antifungal drug resistance in candidemia: results from population-based laboratory surveillance in Atlanta and Baltimore, 2008–2011. **Clinical infectious diseases**, p. cis697, 2012.

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Sixteenth Informational Supplement, Collaborating Centre for Reference Research on Salmonella, Institute, M100-S16, v. 26, n. 6, 2009.

CO, E.; KOLAWOLE, S.; AWA, E. Phytochemical composition and antifungal actions of aqueous and ethanolic extracts of the peels of two yam varieties. **Medecinal and Aromatic Plants**, p. 2167-0412.1000128, 2013.

CORDELL, G. A., BEECHER, C. W. W., PEZZUTO, J. M. Can ethnopharmacology contribute to the development of new anticancer drugs? **Journal of Ethnopharmacology**, v.32, p.117-33, 1991.

CORZO-LEON, D. E.; ALVARADO-MATUTE, T.; COLOMBO, A. L.; CORNEJO-JUAREZ, P.; CORTES, J.; ECHEVARRIA, J. I.; GUZMAN-BLANCO, M.; MACIAS, A. E.; NUCCI, M.; OSTROSKY-ZEICHNER, L; PONCE-DE-LEON, A.; QUEIROZ-TELLES, F.; SANTOLAYA, M. E.; THOMPSON-MOYA, L.; TIRABOSCHI, I. N.;

ZURITA, J.; SIFUENTES-OSORNIO, J. Surveillance of *Candida* spp Bloodstream Infections: Epidemiological Trends and Risk Factors of Death in Two Mexican Tertiary Care Hospitals. **Plos one**, v.9, 2014.

COSTA JUNIOR, J. S. Análise Fitoquímica e Toxicológica das Sementes de *Platonia insignis* Mart (Bacuri). Canoas: ULBRA, 2011.217p. Tese do Programa de Pós-Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada, Canoas, 2011a.

COSTA JUNIOR, J. S.; ALMEIDA, A. A. C.; FERRAZ, A. B. F.; ROSSATTO, R. R.; SILVA, T. G.; SILVA, P. B. N.; MILITÃO, G. C. G.; CITO, A. M. G. L.; SANTANA, L.C. L. R.; CARVALHO, F. A. A.; FREITAS, R. M. Cytotoxic and leishmanicidal properties of garcinielliptone FC, a prenylated benzophenone from *Platonia insignis*. **Natural product research**, v. 27, n. 4-5, p. 470-474, 2013a.

COSTA JÚNIOR, J. S.; FERRAZ, A. B. F.; SOUSA, T. O.; SILVA, R. A. C.; LIMA, S. G.; FEITOSA, C. M.; CITÓ, A. M. G. L.; CAVALCANTE, A. A. C. M.; FREITAS, R. M.; SPEROTO, A. R. M.; PERES, V. F.; MOURA, D.J.; SAFFI, J. Investigation of Biological Activities of Dichloromethane and Ethyl Acetate Fractions of *Platonia insignis* Mart. Seed. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 112, n. 1, p. 34-41, 2013b.

COSTA JÚNIOR, J. S.; FERRAZ, A.; FEITOSA, C. M.; CITÓ, A. M. G. L.; SAFFI, J.; FREITAS, R. M. Evaluation of effects of dichloromethane fraction from *Platonia insignis* on pilocarpine-induced seizures. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 6, p. 1104-1110, 2011b.

COSTA, A. F. Farmacognosia, V. 1. Lisboa: Fundação Calouste Gulbeukian, 1975.

COSTA, A. L. P.; CAMPOS, M. B.; BARBOSA, L. P. J. D. L.; BEZERRA, R. M.; BARBOSA, F. H. F. Análise preliminar qualitativa fitoquímica e do potencial antimicrobiano do extrato bruto hidroalcoólico de casca de *Bertholletia excelsa* Humb. & Bomp. (Lecythidaceae) frente a microrganismos gram-positivo. **Ciência Equatorial**, v. 2, n. 1, 2012.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical microbiology reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

CRUZ, C. B. N. D.; SOUZA, M. C. S. D.; SERRA, P. T.; SANTOS, I.; BALIEIRO, A.; PIERI, F. A.; ORLANDI, P. P. Virulence Factors Associated with Pediatric Shigellosis in Brazilian Amazon. **BioMed research international**, v. 2014, 2014.

CULQUI, D. R.; GARCÍA-DE-OLALLA-RIZO, P.; ALVA-CHAVEZ, K. P.; LAFUENTE, S.; RIUS, C.; SIMÓN, M.; SABATER, S.; CAYLÁ, J. A. Análisis del patrón epidemiológico de la shigelosis en Barcelona entre 1988 y 2012: es una infección de transmisión sexual emergente?. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, 2014.

CURSINO, L. M.; SANTOS, I.; MARIÚBA, L. A.; JEFFREYS, M. F.; LIMA, N. M.; OLIVEIRA, J. L.; NUNEZ, C. V. Antibacterial activity of *Minquartia guianensis* extracts and phytochemical evaluation. **Emir J Food Agric**, v. 23, n. 6, 2011.

CYMERYS, M.; PAULA-FERNANDES, N. M.; RIGAMONTE-AZEVEDO, O. C. Buriți *Mauritia flexuosa* Lf In: SHANLEY, P.; MEDINA, G. **Frutíferas e plantas úteis na vida Amazônica**. Belém: CIFOR, Imazon, p. 181-187, 2005.

DABUL, A. N. G.; CAMARGO, I. L. B. C. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* resistant to tigecycline and daptomycin isolated in a hospital in Brazil. **Epidemiology and infection**, v. 142, n. 03, p. 479-483, 2014.

DAS, A.; CHAUDHURI, D.; MANDAL, N.; CHATTERJEE, A. Study of antioxidant and reactive oxygen species scavenging activity of the edible tuber of “greater yam” (*Dioscorea alata* L.) from North-East India. **Flora**, v. 11, p. 12, 2012.

DAVIS, J. DAVIES, Julian. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. **Science**, v. 264, n. 5157, p. 375-382, 1994.

DOARE, K.; BIELICKI, J.; HEATH, P. T.; SHARLAND, M. Systematic review of antibiotic resistance rates among gram-negative bacteria in children with sepsis in resource-limited countries. **Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society**, v. 4, n. 1, p. 11-20, 2015.

DOLAPO, O.; DHANIREDDY, R.; TALATI, A. J. Trends of *Staphylococcus aureus* bloodstream infections in a neonatal intensive care unit from 2000-2009. **BMC pediatrics**, v. 14, n. 1, p. 121, 2014.

DONADIO, L. C.; SILVA, J. A. A.; ARAÚJO, P. S. R.; PRADO, R. M. caramboleira (*Averrhoa carambola* L.) **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n.4, p.1300-1307, 2001.

DONDORP, A. M.; FAIRHURST, R. M.; SLUTSKER, L.; MACARTHUR, J. R.; BREMAN, J. G.; GUERIN, P. J.; WELLEMS, T. E.; RINGWALD, P.; NEWMAN, R. D.; PLOWE, C. V. The threat of artemisinin-resistant malaria. **New England Journal of Medicine**, v. 365, n. 12, p. 1073-1075, 2011.

DONDORP, A. M.; YEUNG, S.; WHITE, L.; NGUON, C.; DAY, N. P.; SOCHEAT, D.; SEIDLEIN, L. V. Artemisinin resistance: current status and scenarios for containment. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 4, p. 272-280, 2010.

DOWNIE, L.; ARMIENTO, R.; SUBHI, R; KELLY, J.; CLIFFORD, V.; DUKE, T. Community-acquired neonatal and infant sepsis in developing countries: efficacy of WHO's currently recommended antibiotics—systematic review and meta-analysis. **Archives of disease in childhood**, v. 98, n. 2, p. 146-154, 2013.

DRAWZ, S. M.; BONOMO, R. A. Three decades of β -lactamase inhibitors. **Clinical microbiology reviews**, v. 23, n. 1, p. 160-201, 2010.

DUARTE, D.; VERAS, M. A.; MARTINS, J. A. Perfil evolutivo da resistência do *Staphylococcus aureus* – experiência do Hospital Adventista Silvestre. In: Programa Oficial e Resumo de Trabalhos do VIII Congresso Brasileiro de Infectologia, Porto Alegre. Resumo nº 91, p. 82,1994.

ELISABETSKY, E.; SOUZA, G. C. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, v. 5, p. 107-122, 2004.

ELLOF, J. N. Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants?. **Journal of ethnopharmacology**, v. 60, n. 1, p. 1-8, 1998.

EMBRAPA. Recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas; Estratégias para a conservação e manejo sustentável, 2010.

ENE, I. V.; BENNETT, R. J. The cryptic sexual strategies of human fungal pathogens. **Nature Reviews Microbiology**, v. 12, n. 4, p. 239-251, 2014.

FAIRHURST, R. M.; NAYYAR, G. M. L.; BREMAN, J. G.; HALLETT, R.; VANNERSTROM, J. L.; DUONG, S.; SOCHEAT, D.; RINGWALD, P.; WELLEMS, T. E.; PLOWE, C. V.; DONDORP, A. M. Artemisinin-resistant malaria: research challenges, opportunities, and public health implications. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 87, n. 2, p. 231-241, 2012.

FAUCI, A. S.; MARSTON, H. D. The perpetual challenge of antimicrobial resistance. **JAMA**, v. 311, n. 18, p. 1853-1854, 2014.

FEHLBERG, L. C.; CARVALHO, A. M.; CAMPANA, E. H.; GONTIJO-FILHO, P. P.; GALES, A. C. Emergence of *Klebsiella pneumoniae*-producing KPC-2 carbapenemase in Paraíba, Northeastern Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 6, p. 577-580, 2012.

FERREIRA, B. S.; ALMEIDA, C. G.; FAZA, L. P.; DE ALMEIDA, A.; DINIZ, C. G.; SILVA, V. L. D. L.; HYARIC, M. Comparative properties of amazonian oils obtained by different extraction methods. **Molecules**, v. 16, n. 7, p. 5875-5885, 2011a.

FERREIRA, F.S.; SANTOS, S.C.; BARROS, T.F.; ROSSI-ALVA, J.C.; FERNANDEZ, L.G. Atividade antibacteriana in vitro de extratos de *Rhizophora mangle* L. **Rev. Bras. Plantas Med**, v. 13, n. 3, p. 305-310, 2011b.

FERREIRA, M.; NOGUEIRA, A. E.; DAMIÃO FILHO, C. F. Estudo morfológico de folhas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum.). **Embrapa Rondônia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, 2006.

FERREIRA, P. E.; CULLETON, R.; GIL, J. P.; MESHNICK, S. R. Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum*: what is it really?. **Trends in parasitology**, v. 29, n. 7, p. 318-320, 2013.

FILHO, M.; PEREIRA, A. L.; ROCHA, M. R. Atividade antimicrobiana de óleos extraídos de açaí e de pupunha sobre o desenvolvimento de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*= Antimicrobial activity of açaí and pupunha oils on the development of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus*. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 4, 2012.

FLORENCE, N. T.; BENOIT, M. Z.; JONAS, K.; ALEXANDRA, T.; DÉsirÉ, D. D. P.; PIERRE, K.; THÉOPHILE, D. Antidiabetic and antioxidant effects of *Annona muricata* (Annonaceae), aqueous extract on streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 151, n. 2, p. 784-790, 2014.

FORZZA, R.C. Introdução - síntese da diversidade brasileira. In: _____. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, p.21-42, 2010.

FOTHERGILL, A. W. SUTTON, D. A.; MCCARTHY, D. I.; WIEDERHOLD, N. P. The impact of new antifungal breakpoints on antifungal resistance in *Candida* species. **Journal of clinical microbiology**, p. JCM. 03044-13, 2014.

GACHET, M. S., Lecaro, J. S., Kaiser, M., Brun, R., Navarrete, H., Muñoz, R. A.; Schühly, W. Assessment of anti-protozoal activity of plants traditionally used in Ecuador in the treatment of leishmaniasis. **Journal of ethnopharmacology**, v. 128, n. 1, p. 184-197, 2010.

GAVAMUKULYA, Y.; ABOU-ELELLA, F.; WAMUNYOKOLI, F.; AEL-SHEMY, H. Phytochemical screening, anti-oxidant activity and in vitro anticancer potential of ethanolic and water leaves extracts of *Annona muricata* (Graviola). **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 7, p. S355-S363, 2014.

GIRI, S.; KINDO, A. J. A review of *Candida* species causing blood stream infection. **Indian journal of medical microbiology**, v. 30, n. 3, p. 270, 2012.

GISKE, C. G.; MONNET, D. L.; CARS, O.; CARMELI, Y. Clinical and economic impact of common multidrug-resistant gram-negative bacilli. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 52, n. 3, p. 813-821, 2008.

GONÇALVES, G.; SANTOS, N. P.; SREBERNICH, S. M. Antioxidant and antimicrobial activities of propolis and açai (*Euterpe oleracea* Mart) extracts. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 3, p. 349-356, 2012.

GONÇALVES, L. O. Substâncias antimicrobianas de plantas superiores. Comunicação XIV. Ocorrência de antibióticos em madeiras de lei do Brasil. **Instituto de Antibióticos**, Recife, v. 2, p.19-33, 1959.

GONÇALVES, S. T.; BARONI S.; BERSANI-AMADO, F. A.; MELO, G. A. N.; CORTEZ, D. A. G.; BERSANI-AMADO C. A.; CUMAN, R. K. N. Preliminary studies on gastric anti-ulcerogenic effects of *Averrhoa carambola* in Rats. **ACTA FARMACEUTICA BONAERENSE**, v. 25, n. 2, p. 245, 2006.

GOW, N. A.; VEERDONK, F. L. V.; BROWN, A. J. P.; NETEA, M. G. *Candida albicans* morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, n. 2, p. 112-122, 2012.

GRENAND, P.; MORETTI, C.; JACQUEMIN, H.; PRÉVOST, M. F. Pharmacopées traditionnelles en Guyane, Créoles, Wayasi, Palikur. IRD, Paris, pp. 293-298, 2004.

GUALCO, L.; DEBBIA, E. A.; BANDETTINI, R.; PESCIETTO, L.; CAVALLERO, A.; OSSI, M. C.; MARCHESE, A. Antifungal resistance in *Candida* spp. isolated in Italy between 2002 and 2005 from children and adults. **International journal of antimicrobial agents**, v. 29, n. 2, p. 179-184, 2007.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, Mônica, T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Quim. Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

GUIMARÃES, M. M.; FIGUEIREDO, T. V. B.; MACHADO, B. A. S.; DRUZIAN, J. I. UTILIZAÇÃO DE CHOCOLATES RICOS EM POLIFENÓIS E COM AÇÃO ANTIOXIDANTE: BUSCA EM BASES DE PATENTES. **Cadernos de Prospecção**, v. 5, n. 3, p. 168, 2014.

GUO, W.; HE, Q.; WANG, Z.; WEI, M.; YANG, Z.; DU, Y.; HE, J. Influence of antimicrobial consumption on gram-negative bacteria in inpatients receiving antimicrobial resistance therapy from 2008-2013 at a tertiary hospital in Shanghai, China. **American journal of infection control**, v. 43, n. 4, p. 358-364, 2015.

GUZEL, A. B.; ILKIT, M.; BURGUT, R.; URUNSAK, I. F.; OZGUNEN, F. T. An evaluation of risk factors in pregnant women with *Candida* vaginitis and the diagnostic value of simultaneous vaginal and rectal sampling. **Mycopathologia**, v. 172, n. 1, p. 25-36, 2011.

HAMIZAH, S.; ROSLIDA, A. H.; FEZAH, O.; TAN, K. L.; TOR, Y. S.; TAN, C. I. Chemopreventive potential of *Annona muricata*. L leaves on chemically-induced skin papillomagenesis in mice. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 13, n. 6, p. 2533-2539, 2012.

HARKER, K. S.; LANE, C.; GORMLEY, F. J.; ADAK, G. K. National outbreaks of *Salmonella* infection in the UK, 2000–2011. **Epidemiology and infection**, v. 142, n. 03, p. 601-607, 2014.

HEJNAR P.; KOLAR M.; HAJEK, V. Characteristics of *Acinetobacter* strains (phenotype classification, antibiotic susceptibility and production of ss-lactamases) isolated from haemocultures from patients at the teaching hospital in Olomouc. **ACTA-UNIVERSITATIS PALACKIANAE OLMUCENSIS FACULTATIS MEDICAE**, p. 73-78, 1999.

HENDRIKSEN, R. S.; PRICE, L. B.; SCHUPP, J. M.; GILLECE, J. D.; KAAS, R. S.; ENGELTHALER, D. M.; BORTOLAIA, V.; PEARSON, T.; WATERS, A. E.; UPADHYAY, B. P.; SHRESTHA, S. D.; ADHIKARI, S.; SHAKYA, G.; PAUL S KEIM, P.S.; AARESTRUP, F. M. Population genetics of *Vibrio cholerae* from Nepal in 2010: evidence on the origin of the Haitian outbreak. **MBio**, v. 2, n. 4, p. e00157-11, 2011.

HIRSCH, E. B.; TAM, V. H. Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, p. dkq108, 2010.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E.F.; VIEIRA, P.C. Princípios Ativos de Plantas Superiores. Sao Carlos: Edufscar, 2003.

HOWARD, A.; O'DONOGHUE, M.; FEENEY, A.; SLEATOR, R. D. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. **Virulence**, v. 3, n. 3, p. 243-250, 2012.

HUANG, C. C.; LIN, M. C.; WANG, C. C. R. Changes in morphological, thermal and pasting properties of yam (*Dioscorea alata*) starch during growth. **Carbohydrate Polymers**, v. 64, n. 4, p. 524-531, 2006.

HUR, J.; JAWALE, C.; LEE, J. H. Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: A review. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 819-830, 2012.

IGUCHI, A.; NAGAYA, Y.; PRADEL, E.; OOKA, T.; OGURA, Y.; KATSURA, K.; KEN KUROKAWA, K.; OSHIMA, K.; HATTORI, M.; PARKHILL, J.; SEBAIHIA, M.; COULTHURST, S. J.; GOTOH, N.; THOMSON, N. R.; EWBANK, J. J.; HAYASHI, T. Genome evolution and plasticity of *Serratia marcescens*, an important multidrug-resistant nosocomial pathogen. **Genome biology and evolution**, v. 6, n. 8, p. 2096-2110, 2014.

JAISWAL, A. K.; RAJAURIA, G.; ABU-GHANNAM, N.; GUPTA, S. Effect of different solvents on polyphenolic content, antioxidant capacity and antibacterial activity of Irish York cabbage. **Journal of Food Biochemistry**, v. 36, n. 3, p. 344-358, 2012.

JENSEN, R. H.; ASTVAD, K. M. T.; SILVA, L. V.; SANGLARD, D.; JØRGENSEN, R.; NIELSEN, K. F.; MATHIASSEN, E. G.; DOROUDIAN, G.; PERLIN, D. S.; ARENDRUP, M. C. Stepwise emergence of azole, echinocandin and amphotericin B multidrug resistance in vivo in *Candida albicans* orchestrated by multiple genetic alterations. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, p. dkv140, 2015.

JOHN, J. A.; SHAHIDI, F. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). **Journal of Functional Foods**, v. 2, n. 3, p. 196-209, 2010.

JORDÃO, F. M. Caracterização Bioquímica da Biossíntese de Tiamina (Vitamina B1) em *Plasmodium falciparum*. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, p. 89, 2007.

JUNIOR, V. F. V.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura. **Química nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

KAASE, M.; NORDMANN, P.; WICHELHAUS, T. A.; GATERMANN, S. G.; BONNIN, R. A.; POIREL, L. NDM-2 carbapenemase in *Acinetobacter baumannii* from Egypt. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, p. dkr135, 2011.

KANG, J.; THAKALI, K. M.; XIE, C.; KONDO, M.; TONG, Y.; OU, B.; WU, X. Bioactivities of açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. **Food Chemistry**, v. 133, n. 3, p. 671-677, 2012.

KANG, J.; XIE, C.; LI, Z.; NAGARAJAN, S.; SCHAUSS, A. G.; WU, T.; WU, X. Flavonoids from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities. **Food chemistry**, v. 128, n. 1, p. 152-157, 2011.

KARTHIKEYAN, K.; THIRUNARAYAN, M. A.; KRISHNAN, P. Coexistence of blaOXA-23 with blaNDM-1 and armA in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from India. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 65, n. 10, p. 2253-2254, 2010.

KATZ, D. L.; Doughty, K.; A. A. Cocoa and chocolate in human health and disease. **Antioxidants & redox signaling**, v. 15, n. 10, p. 2779-2811, 2011.

KAYE, K. S.; FRAIMOW, H. S.; ABRUTYN, E. Elias. Pathogens resistant to antimicrobial agents: epidemiology, molecular mechanisms, and clinical management. **Infectious disease clinics of North America**, v. 14, n. 2, p. 293-319, 2000.

KEMPF, M.; ROLAIN, J. M. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. **International journal of antimicrobial agents**, v. 39, n. 2, p. 105-114, 2012.

KIM, H. J.; YOUN, S. K.; LEE, S.; CHOI, Y. H. Epidemiological Characteristics of Imported Shigellosis in Korea, 2010–2011. **Osong Public Health and Research Perspectives**, v. 4, n. 3, p. 159-165, 2013.

KLAUSMEYER, P.; Chmurny, G. N.; McCloud, T. G.; Tucker, K. D.; Shoemaker, R. H. A Novel Antimicrobial Indolizinium Alkaloid from *Aniba panurensis*. **Journal of natural products**, v. 67, n. 10, p. 1732-1735, 2004.

KOŁODZIEJ, H.; KAYSER, O.; LATTE, K.P.; FERREIRA, D. Evaluation of the antimicrobial potency of tannins and related compounds using the microdilution broth method. **Planta medica**, v. 65, n. 5, p. 444-446, 1999.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; DOWELL, V. R.; SOMMERS, H. M. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 2º ed. São Paulo: Medicina Panamericana Editora do Brasil Ltda, 1989.

KOOLEN, H. H.; DA SILVA, F. M.; GOZZO, F. C.; DE SOUZA, A. Q.; SOUZA, A. D. Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p. 467-473, 2013.

KOTLOFF, K. L.; WINICKOFF, J. P.; IVANOFF, B.; CLEMENS, J. D.; SWERDLOW, D. L.; SANSONETTI, P. J.; LEVINE, M. M. Global burden of *Shigella* infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 77, n. 8, p. 651-666, 1999.

KRUGER, R.H.; MOURA, M. A. O. Antibiograma – método de Kirby-Bauer. In: MILLER, R.N.G.; CAPDEVILLE, G.; KRUGER, R.H. Manual de práticas laboratoriais em microbiologia. 2003.

KUMARASAMY, K. K.; TOLEMAN, M. A.; WALSH, T. R.; BAGARIA, J.; BUTT, F.; BALAKRISHNAN, R.; WOODFORD, N. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. **The Lancet infectious diseases**, v. 10, n. 9, p. 597-602, 2010.

LEE, Y. T.; KUO, S. C.; YANG, S. P.; LIN, Y. T.; TSENG, F. C.; CHEN, T. L.; FUNG, C. P. Impact of appropriate antimicrobial therapy on mortality associated with *Acinetobacter baumannii* bacteremia: relation to severity of infection. **Clinical infectious diseases**, v. 55, n. 2, p. 209-215, 2012.

LEITE, G. C.; PADOVEZE, M. C.; MORETTI, M. L. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* DNA electrophoretic pattern: temporal changes in an endemic hospital environment. **Panamericana de Salud Pública**, v. 30, n. 6, p. 535-539, 2011.

LI, D.; LI, X.; XIA, R.; ZHANG, W.; ZHENG, S.; ZHANG, Q.; ZHANG, P. Molecular surveillance of candidemia due to *Candida albicans* among cancer patients during 2009 to 2013 by microsatellite typing. **Microbial pathogenesis**, v. 81, p. 28-32, 2015.

Li, X.; Yang, L.; Yu, R.; Zhu, J.; Tian, T.; Song, G.; Song, L. Biotransformation of dihydro-epi-deoxyarteannuin B by suspension-cultured cells of *Averrhoa carambola*. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 7, p. 1724-1728, 2014.

LIM, T. K. *Paullinia cupana*. **Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants**, p. 80-91, 2013a.

LIM, T. K. *Pouteria caimito*. In: **Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants**. Springer Netherlands. p. 129-132, 2013b.

LIM, T. K. *Rollinia mucosa*. In: **Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants**. Springer Netherlands. p. 221-226, 2012a.

LIM, T. K. *Theobroma grandiflorum*. In: **Edible Medicinal And Non Medicinal Plants**. Springer Netherlands, p. 252-258, 2012b.

LIMA, E. O.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Plantas e suas propriedades antimicrobianas: uma breve análise histórica. YUNES, R. A.; CALIXTO J. B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Santa Catarina: Argos Editora Universitária, p. 481-501, 2001.

LIMA, M. C. Bacuri: (*Platonia insignis* Mart-Clusiaceae), agrobiodiversidade. **São Luís: Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura**, 2007.

LIMA, M. E.; ANDRADE, D.; HAAS, V. J. Avaliação prospectiva da ocorrência de infecção em pacientes críticos de Unidade de Terapia Intensiva. **Bras Ter Intensiva**, v. 19, n. 3, p. 342-7, 2007.

LIRA JÚNIOR, J. S. D.; BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; CORREIA, L. C. D. S. A.; MACIEL, M. I. S. José Severino de et al. Antioxidant compounds in fruits of *Averrhoa carambola* accessions under different environments in the state of Pernambuco, Brazil. **Rev. Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 4, p. 813-819, 2014.

LIU, L.; JOHNSON, H. L.; COUSENS, S.; PERIN, J.; SCOTT, S.; LAWN, J. E.; RUDAN, I.; CAMPBELL, H.; CIBULSKIS, R.; LI, M.; MATHERS, C.; BLACK, R. Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000. **The Lancet**, v. 379, n. 9832, p. 2151-2161, 2012.

LIU, W.; TAN, J.; SUN, J.; XU, Z.; LI, M.; YANG, Q.; SHAO, H.; ZHANG, L.; LIU, W.; WAN, Z.; CUI, W.; ZANG, B.; JIANG, D.; FANG, Q.; QIN, B.; QIN, T.; LI, W.; GUO, F.; LIU, D.; GUAN, X.; YU, K.; QIU, H.; LI, R.; ON BEHALF OF THE CHINA-SCAN TEAM. Invasive candidiasis in intensive care units in China: in vitro antifungal susceptibility in the China-SCAN study. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, p. dkt330, 2013.

LIVERMORE, D. M. Current epidemiology and growing resistance of Gram-negative pathogens. **The Korean journal of internal medicine**, v. 27, n. 2, p. 128-142, 2012.

LOEFFLER, J.; STEVENS, D. A. Antifungal drug resistance. **Clinical Infectious Diseases**, v. 36, n. Supplement 1, p. S31-S41, 2003.

LÓPEZ-ROJAS, R.; JIMÉNEZ-MEJÍAS, M. E.; LEPE, J. A.; PACHÓN, J. *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin alters its antibiotic resistance profile: a case report from Spain. **Journal of Infectious Diseases**, v. 204, n. 7, p. 1147-1148, 2011.

LORENZI, F. J. H.; MATOS, A. Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

LORENZI, H. Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 365p. leguminosas arbóreas. **Acta Botânica. Brasília**, v. 13, n. 2, p. 129-137, 1999.

LUNA, R. A.; MILLECKER, L. A.; WEBB, C. R.; MASON, S. K.; WHALEY, E. M.; STARKE, J. R.; HIATT, P. W.; VERSALOVIC, J. Molecular epidemiological surveillance of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates in a pediatric population of patients with cystic fibrosis and determination of risk factors for infection with the Houston-1 strain. **Journal of clinical microbiology**, v. 51, n. 4, p. 1237-1240, 2013.

LUSTOSA, A K. M. F. Avaliação do potencial farmacológico da manteiga de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) e de forma farmacêutica de uso tópico com ela desenvolvida. Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Piauí, 2012.

MA, C. F.; LI, F. Q.; SHI, L. N.; HU, Y. A.; WANG, Y.; HUANG, M.; KONG, Q. Q. Surveillance study of species distribution, antifungal susceptibility and mortality of nosocomial candidemia in a tertiary care hospital in China. **BMC infectious diseases**, v. 13, n. 1, p. 337, 2013.

MAGID, A. A.; Voutquenne, L.; Harakat, D.; Pouny, I.; Caron, C.; Moretti, C.; Lavaud, C. Saponinas triterpenóides dos frutos de *Caryocar villosum*. **Journal of Natural Products**, V.69, p.919 - 926, 2006.

MAIA, R. M.; BARBOSA, P. R.; CRUZ, F.G.; ROQUE, N. F.; FASCIO, M. Triterpenos da resina de *Protium heptaphyllum* March (BURSERACEAE): caracterização em misturas binárias. **Química Nova**, v.23, n.5 p.623-626, 2000.

MARINHO, M. G. V.; SILVA, C. C.; ANDRADE, L. H. C. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de caatinga no município de São José de Espinharas, Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, p. 170-182, 2011.

MARRA, A. R.; CAMARGO, L. F. A.; PIGNATARI, A. C. C.; SUKIENNIK, T.; BEHAR, P. R. P.; MEDEIROS, E. A. S.; RIBEIRO, J.; GIRÃO, E.; GUERRA, C.; BRITES, C.; PEREIRA, C. A. P.; CARNEIRO, I.; REIS, M.; SOUZA, M. A.; TRANCHESI, R.; BARATA, C. U.; EDMOND, M. B.; AND THE BRAZILIAN SCOPE STUDY GROUP. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals: analysis of 2,563 cases from a prospective nationwide surveillance study. **Journal of clinical microbiology**, v. 49, n. 5, p. 1866-1871, 2011.

MARTEL, C. M.; PARKER, J. E.; BADER, O.; WEIG, M.; GROSS, U.; WARRILOW, A. G.; KELLY, S. L. Identification and characterization of four azole-resistant *erg3* mutants of *Candida albicans*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 54, n. 11, p. 4527-4533, 2010b.

MARTINS, A.; RIBOLI, D. F. M.; PEREIRA, V. C.; CUNHA, M. L. R. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a Brazilian university hospital. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 18, n. 3, p. 331-335, 2014a.

MARTINS, M.; KLUCZKOVSKI, A. M.; SOUZA, T. P.; PACHECO, C.; SAVI, G. D.; SCUSSEL, V. M. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* by guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) and jucá (*Libidibia ferrea* Mart) extracts. **Afr. J. Biotech**, v. 13, n. 1, p. 131-137, 2014b.

MATOS, F.J. A. As plantas das farmácias vivas. **Fortaleza, CE: BNB**, 1997.

MCKERCHER, C. M.; OZFOODNET WORKING GROUP. Monitoring the incidence and causes of diseases potentially transmitted by food in Australia: Annual report of the OzFoodNet network, 2010. **Communicable Diseases Intelligence Quarterly Report**, v. 36, n. 3, p. E213-E241, 2012.

MENEZES, E.; DELIZA, R.; CHAN, H. L.; GUINARD, J. Preferences and attitudes towards açai-based products among North American consumers. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1997-2008, 2011.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. J.; MCLAUGHLIN, J. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta medica**, n. 45, p. 31-4, 1982.

MEYER, E.; GEFFERS, C.; GASTMEIER, P.; SCHWAB, F. No increase in primary nosocomial candidemia in 682 German intensive care units during 2006 to 2011. **Euro Surveill**, v. 18, n. 24, p. 20505, 2013.

MIA, M. M.; RAHMAN, M. S.; BEGUM, K.; BEGUM, B.; RASHID, M. A. Phytochemical and biological studies of *Averrhoa carambola*. **Dhaka Univ J Pharmac Sci**, v. 6, p. 125-128, 2007.

MIRANDA, G. S.; SANTANA, G. S.; MACHADO B. B.; COELHO, F. P.; CARVALHO, C. A. Atividade antibacteriana *in vitro* de quatro espécies vegetais em diferentes graduações alcoólicas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 1, p. 104-111, 2013.

MITA, T.; TANABE, K. Evolution of *Plasmodium falciparum* drug resistance: implications for the development and containment of artemisinin resistance. **Japanese journal of infectious diseases**, v. 65, n. 6, p. 465-475, 2012.

MORTON, J. F. Fruits of warm climates, Miami: Flair Books p.125-128, 1987.

MUELLER, I.; GALINSKI, M. R.; BAIRD, J. K.; CARLTON, J. M.; KOCHAR, D. K.; ALONSO, P. L.; DEL PORTILLO, H. A. Key Gaps in the Knowledge of *Plasmodium vivax*, a Neglected Human Malaria Parasite. **Lancet Infect Dis**, v. 9, p. 555-566, 2009.

MUGHINI-GRAS, L.; ENSERINK, R.; FRIESEMA, I.; HECK, M.; DUYNHOVEN, Y. V.; VAN PELT, W. V. Fatores de risco para a salmonelose humana proveniente de suínos, bovinos, frangos de corte e galinhas poedeiras de ovos: Uma análise de caso-controle e fonte de atribuição combinada. **PLoS ONE**. v 9, n. 2, p. e87933 de 2014.

MURRAY, C. J. L; ROSENFELD, L. C.; LIM, S. S.; ANDREWS, K. G.; FOREMAN, K. J.; HARING, D.; FULLMAN, N.; NAGHAVI, M.; LOZANO, R.; LOPEZ, A. D. Global malaria mortality between 1980 and 2010: a systematic analysis. **The Lancet**, v. 379, n. 9814, p. 413-431, 2012.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. Microbiologia médica. 7. ed. Elsevier Rio de Janeiro, 2014.

NAKAYAMA, G. R.; CATON, M.C.; NOVA, M. P.; PARANDOOSH, Z. Assessment of the Alamar Blue assay for cellular growth and viability *in vitro*. **Journal of immunological methods**, v. 204, n. 2, p. 205-208, 1997.

NASCIMENTO, W. M. O.; CARVALHO, J. E. U.; MULER, C. H. Ocorrência e distribuição geográfica do bacurizeiro. **Rev. Bras. Frutic.** v. 29, n. 3, 2007.

NAZIF, N. M. Phytoconstituents of *Zizyphus spina-christi* L. fruits and their antimicrobial activity. **Food chemistry**, v. 76, n. 1, p. 77-81, 2002.

NENOFF, P.; OSWALD, U.; HAUSTEIN, U. F. In vitro susceptibility of yeasts for fluconazole and itraconazole. Evaluation of a microdilution test. **Mycoses**, v. 42, n. 11-12, p. 629-639, 1999.

NETO, C. C.; OWENS, C.W.; LANGFIELD, R. D.; COMEAU, A. B.; ONGE, J.; VAISBERG, A. J.; HAMMOND, G. B. Antibacterial activity of some Peruvian medicinal plants from the Callejon de Huaylas. **Journal of ethnopharmacology**, v. 79, n. 1, p. 133-138, 2002.

NEUNER, E. A.; YEH, J. Y.; HALL, G. S.; SEKERES, J.; ENDIMIANI, A.; BONOMO, R.; SHRESTHA, N. K.; FRASER, T. G.; DUIN, D. V. Treatment and outcomes in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 69, n. 4, p. 357-362, 2011.

NEWMAN, T. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. The influence of natural products upon drug discovery. **Natural product reports**, v. 17, n. 3, p. 215-234, 2000.

NORDMANN, P.; POIREL, L.; TOLEMAN, M. A.; WALSH, T. R. Does broad-spectrum β -lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by Gram-negative bacteria?. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, p. dkq520, 2011.

NUCCI, M.; QUEIROZ-TELLES, F.; ALVARADO-MATUTE, T.; TIRABOSCHI, I. N.; CORTES, J.; ZURITA, J.; UZMAN-BLANCO, M.; SANTOLAYA, M. E.; THOMPSON, L.; SIFUENTES-OSORNIO, J.; ECHEVARRIA, J. I.; COLOMBO, A. L. Epidemiology of candidemia in Latin America: a laboratory-based survey. **PloS one**, v. 8, n. 3, p. e59373, 2013.

NUNES, M. R.; MAGALHÃES, P. P.; PENNA, F. J.; NUNES, J. M., MENDES, E. N. Diarrhea associated with *Shigella* in children and susceptibility to antimicrobials. **Jornal de pediatria**, v. 88, n. 2, p. 125-128, 2012.

O'BRIEN, C.; HENRICH, P. P.; PASSI, N.; FIDOCK, D. A. Recent clinical and molecular insights into emerging artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum*. **Current opinion in infectious diseases**, v. 24, n. 6, p. 570, 2011.

OCHIENG, J. B.; BOISEN, N.; LINDSAY, B.; SANTIAGO, A.; OUMA, C.; OMBOK, M.; FIELDS, B.; STINE, O. S.; NATARO, J. P. *Serratia marcescens* is injurious to intestinal epithelial cells. **Gut microbes**, v. 5, n. 6, p. 729-736, 2014.

OLIVEIRA, A. C.; BETTCHER, L. Aspectos epidemiológicos da ocorrência do *Enterococcus* resistente a Vancomicina. **Rev Esc Enferm USP**, v. 44, n. 3, p. 725-31, 2010.

OLIVEIRA, A. H. Atividade antimicrobiana e imunológica *in vitro* dos extratos de *Senna reticulata* (Willd.) Irwin & Barneby (mata-pasto) e *Vismia guianensis* (Aubl.) (lacre). Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Araraquara, 2009.

OLIVEIRA, T. B.; Genovese, M. I. Chemical composition of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*), cocoa (*Theobroma cacao*) liquors, and their effects on streptozotocin-induced diabetic rats. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p. 929-935, 2013.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCOLI, C. M.; TOBUTI, N. R.; SINTO, S. I. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. **Sarvier, São Paulo**, 2000.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CIM) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Vol. 18, Pp. 301-307, 2008.

PAARAKH, P. M.; CHANSOURIA, J. P. N.; KHOSA, R. L. Wound healing activity of *Annona muricata* extract. **Journal of Pharmacy Research Vol**, v. 2, n. 3, 2009.

PACKARD, R. M. The origins of antimalarial-drug resistance. **New England Journal of Medicine**, v. 371, n. 5, p. 397-399, 2014.

PADOVEZE, M. C.; FORTALEZA, C. M. B. Infecções relacionadas à assistência à saúde: desafios para a saúde pública no Brasil. **Rev Saúde Pública**, v. 48, n. 6, p. 995-1001, 2014.

PALOMINO, J. C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. 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.

PALTANSING, S.; KRAAKMAN, M. E. M.; RAS, J. M. C.; WESSELS, E.; BERNARDS, A. T. Characterization of fluoroquinolone and cephalosporin resistance mechanisms in Enterobacteriaceae isolated in a Dutch teaching hospital reveals the presence of an *Escherichia coli* ST131 clone with a specific mutation in parE. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. 1, p. 40-45, 2013.

PARISE, V. E. Vigilância, prevenção e controle da malária em palmas, Tocantins, Brasil, no período 2000 a 2013. **Hygeia**, v. 10, n. 18, p. 190-206, 2014.

PATHAK, P.; SARASWATHY, V. A.; SAVAI, J. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of the leaves of *Annona muricata*. **International Journal of Pharma Research and Development**, v. 2, n. 5, p. 1-6, 2010.

PATIL, A.; KOLI, S.; PATIL, D. A.; NARAYANE, V.; PHATAK, A. V. Evaluation of effect of aqueous slurry of *Curculigo orchoides* Gaertn. Rhizome in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Pharmacy Research**, v. 7, n. 8, p. 747-753, 2013.

PELEG, I.; GIVON-LAVI, N.; LEIBOVITZ, E.; BROIDES, A. Epidemiological trends and patterns of antimicrobial resistance of *Shigella* spp. isolated from stool cultures in two different populations in Southern Israel. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 78, n. 3, p. 287-291, 2014.

PEREIRA, V. C., RIBOLI, D. F. M.; MARIA DE LOURDES, M. R. S. Characterization of the clonal profile of MRSA isolated in neonatal and pediatric intensive care units of

a University Hospital. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, v. 13, n. 1, p. 50, 2014.

PERLIN, D. S. Echinocandin-resistant *Candida*: molecular methods and phenotypes. **Current Fungal Infection Reports**, v. 5, n. 3, p. 113-119, 2011.

PERLIN, D. S. Resistance to echinocandin-class antifungal drugs. **Drug Resistance Updates**, v. 10, n. 3, p. 121-130, 2007.

PFALLER, M. A. Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. **The American journal of medicine**, v. 125, n. 1, p. S3-S13, 2012b.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. **Clinical microbiology reviews**, v. 20, n. 1, p. 133-163, 2007.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J. Progress in antifungal susceptibility testing of *Candida* spp. by use of Clinical and Laboratory Standards Institute broth microdilution methods, 2010 to 2012. **Journal of clinical microbiology**, v. 50, n. 9, p. 2846-2856, 2012a.

PFALLER, M. A.; MESSER, S. A.; MOET, G. J.; JONES, R. N.; CASTANHEIRA, M. *Candida* bloodstream infections: comparison of species distribution and resistance to echinocandin and azole antifungal agents in Intensive Care Unit (ICU) and non-ICU settings in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2008–2009). **International journal of antimicrobial agents**, v. 38, n. 1, p. 65-69, 2011.

PHYO, A. P.; NKHOMA, S.; STEPNIIEWSKA, K.; ASHLEY, E. A.; NAIR, S.; MCGREADY, R.; MOO, C. L.; AL-SAAI, S.; DONDORP, A. M.; LWIN, K. M.; SINGHASIVANON, P.; NICHOLAS DAY, N. P. J.; WHITE, N. J.; TIM, A. J. C.; NOSTEN, F. Emergence of artemisinin-resistant malaria on the western border of Thailand: a longitudinal study. **The Lancet**, v. 379, n. 9830, p. 1960-1966, 2012.

PIERI, A. F.; MUSSI, M. C. M.; FIORINI, J. E.; MOREIRA, M. A. S.; SCHNEEDORF, J. M. Bacteriostatic effect of copaiba oil (*Copaifera officinalis*) against *Streptococcus mutans*. **Brazilian dental journal**, v. 23, n. 1, p. 36-38, 2012.

PINTO, P. M. Atividade antibacteriana das espécies *Paullinia cupana* Kunth. E *Ptychopetalum olacoides* Benth, Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), 2012.
PIO CORREA, M. *Dicionários de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*, volume 1. Brasília: Ministério da Agricultura, 1984.

POIREL, L.; AL MASKARI, Z.; AL RASHDI, F.; BERNABEU, S.; NORDMANN, P. NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated in the Sultanate of Oman. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, p. dkq428, 2010.

POIREL, L.; FORTINEAU, N.; NORDMANN, P. International transfer of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* from Iraq to France. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 55, n. 4, p. 1821-1822, 2011.

POMPEU, D. R.; ROGEZ, H.; MONTEIRO, K. M.; TINTI, S. V.; CARVALHO, J. E. Antioxidant capacity and pharmacologic *screening* of crude extracts of *Byrsonima crassifolia* and *Inga edulis* leaves. **Acta amazônica**, v. 42, n. 1, p. 165-172, 2012.\

POOLE, K. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance to the max. **Frontiers in microbiology**, v. 2, 2011.

PRASHAR, A.; HILI, P.; VENESS, R. G.; EVANS, C. S. Antimicrobial action of palmarosa oil (*Cymbopogon martinii*) on *Saccharomyces cerevisiae*. **Phytochemistry**, v. 63, n. 5, p. 569-575, 2003.

PUMART, P.; PHODHA, T.; THAMLIKITKUL, V.; RIEWPAIBOON, A.; PRAKONGSAI, P.; LIMWATTANANON, S. Health and economic impacts of antimicrobial resistance in Thailand. **J Health Systems Res**, v. 6, p. 352-60, 2012.

QUINDÓS, G. Epidemiology of candidaemia and invasive candidiasis. A changing face. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 31, n. 1, p. 42-48, 2014.

QUINET, A.; BAITELLO, J. B.; MORAES, P. D.; ALVES, F. M.; ASSIS, L. Lauraceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em:< <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB1>, v. 43, 2011.

RABELO, D. D. M.; PINHEIRO, M. L. B.; BARISON, A.; SALOMÉ, K. S.; COSTAC, E. V.; SILVA, F. M. A.; BASTOSD, I. S. Alcaloides isoquinolínicos e investigação das atividades antiplasmódica e antibacteriana de *Guatteria citriodora* (Annonaceae). **Quim. Nova**, v. 37, n. 9, p. 1453-1458, 2014.

REN, B.; DAI, H. Q.; PEI, G.; TONG, Y. J.; ZHUO, Y.; YANG, SU, M. Y.; HUANG, P.; YANG, Y. Z.; N.; ZHANG, L. X. ABC transporters coupled with the elevated ergosterol contents contribute to the azole resistance and amphotericin B susceptibility. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 98, n. 6, p. 2609-2616, 2014.

RIBEIRO, C. M. Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na Medicina popular da Amazônia. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Instituto de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Pará, Belém, p. 66, 2008.

RIBEIRO, J. E. L. S.; HOPKINS, M. J. G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C. A.; COSTA, M. A. S.; BRITO, J. M.; SOUZA, M. A. D.; MARTINS, L. H. P.; LOHMANN, L. P.; ASSUNÇÃO, P. A. C.; PEREIRA, E. C.; SILVA, C. F.; MR MESQUITA, M. R.; PROCÓPIO, L. C. Flora da Reserva Ducke: Guia de Identificação das Plantas Vasculares de uma Floresta de Terra Firme na Amazônica Central. **Flora da Reserva Ducke: Guia de Identificação das Plantas Vasculares de uma Floresta de Terra Firme na Amazônica Central**, 1999.

RICARDO, E. T. A. Detecção e quantificação da expressão de genes de resistência aos azoles em *Candida albicans*. 2011.

RICE, L. B. Do we really need new anti-infective drugs?. **Current opinion in pharmacology**, v. 3, n. 5, p. 459-463, 2003.

RICHARDS, A. M.; KWAIK, Y. A.; LAMONT, R. J. Code blue: *Acinetobacter baumannii*, a nosocomial pathogen with a role in the oral cavity. **Molecular oral microbiology**, v. 30, n. 1, p. 2-15, 2015.

ROBERTS, J. L.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. Farmacognosia e farmacobiologia. **São Paulo: Premier**, p. 92-121, 1997.

ROCHA E SILVA, M. **Fundamentos da farmacologia e suas aplicações à Terapêutica**. 3. ed. rev., São Paulo: EDART; Brasília: INL, v.11, 1973.

ROCHA, D. C. D. C.; MARINHO, A. N. R.; REIS, M. S. O.; BORGES, I. R.; RAMOS, F. L. P.; LOUREIRO, E. C. B. Perfil epidemiológico e caracterização molecular de *Salmonella Typhi* isoladas no Estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 4, p. 53-62, 2014.

ROLAIN, J. M.; ROCH, A.; CASTANIER, M.; PAPAIZIAN, L.; RAOULT, D. *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin with impaired virulence: a case report from France. **Journal of Infectious Diseases**, v. 204, n. 7, p. 1146-1147, 2011.

RUBIO, F. G.; OLIVEIRA, V. D. C.; RANGEL, R. M. C.; NOGUEIRA, M. C. L.; ALMEIDA, M. T. G. Trends in bacterial resistance in a tertiary university hospital over one decade. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 4, p. 480-482, 2013.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURACALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

SÁ, M. M.; FERREIRA, M.; LIMA, E. S.; SANTOS, I.; ORLANDI, P. P.; FERNANDES, L. Antimicrobial activity of allylic thiocyanates derived from the Morita-Baylis-Hillman reaction. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 3, p. 807-812, 2014.

SÁ, M. S. Avaliação da atividade antimetabólica de substâncias obtidas de espécies vegetais nativas ou endêmicas do semi-árido brasileiro e derivados sintéticos. Diss. Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz, 2011.

SABBE, S.; VERBEKE, W.; DELIZA, R.; MATTA, V. M.; VAN DAMME, P. Consumer liking of fruit juices with different açai (*Euterpe oleracea* Mart.) concentrations. **Journal of food science**, v. 74, n. 5, p. S171-S176, 2009.

SAGHIR, S. A. M.; SADIKUN, A.; KHAW, K. Y.; MURUGAIYAH, V. Star fruit (*Averrhoa carambola* L.): From traditional uses to pharmacological activities. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 12, n. 3, p. 209-219, 2013.

SAID, L. B.; JOUINI, A.; KLIBI, N.; DZIRI, R.; ALONSO, C. A.; BOUDABOUS, A.; SLAMA, K. B.; TORRES, C. Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-

producing Enterobacteriaceae in vegetables, soil and water of the farm environment in Tunisia. **International journal of food microbiology**, v. 203, p. 86-92, 2015.

SAKTHIDEVI, G.; MOHAN, V. R. Total phenolic, flavonoid contents and in vitro antioxidant activity of *Dioscorea alata* L. Tuber. **J. Food Drug Anal**, v. 5, p. 115-119, 2013.

SALOMÃO, R. D. P. Densidade, estrutura e distribuição espacial de castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H. & B.) em dois platôs de floresta ombrófila densa na Amazônia setentrional brasileira. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi Ciências Naturais**, v. 4, n. 1, p. 11-25, 2009.

SANGUINETTI, M.; POSTERARO, B.; LASS-FLÖRL, C. Antifungal drug resistance among *Candida* species: mechanisms and clinical impact. **Mycoses**, v. 58, n. S2, p. 2-13, 2015.

SANTANA, C. F.; LIMA, O. G.; D'ALBUQUERQUE, I. L.; LACERDA, A. L.; MARTINS, D. G. Observações sobre as propriedades antitumorais e toxicológicas do extrato do líber e de alguns componentes do cerne do Pau d'arco (*Tabebuia avellanedae*). **Instituto de Antibióticos**, Recife, v. 8, n. 2, p. 89-94, 1968.

SANTOS, A. O. S.; UEDA-NAKAMURA, T.; FILHO, B. P. D.; JUNIOR, V. F. V.; PINTO, A. C.; CELSO NAKAMURA, V. C. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 3, p. 277-281, 2008.

SANTOS, C. A.; RIBEIRO, R. C.; DA SILVA, E. V. C.; SILVA, N.; DA SILVA, B. A.; SILVA, G. F.; DE BARROS, B. C. V. Elaboração de biscoito de farinha de buriti (*Mauritia flexuosa* L. f) com e sem adição de aveia (*Avena sativa* L.). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 5, n. 1, 2011.

SANTOS, C. E.; ROBERTO, S. R.; MARTINS, A. B. G. Propagação do biribá (*Rollinia mucosa*) e sua utilização como porta-enxerto de pinha (*Annona squamosa*). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 27, n. 3, p. 433-436, 2005.

SANTOS, M. R. A.; LIMA, M. R.; OLIVEIRA, C. L. L. G. Medicinal plants used in Rondônia, Western Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 707-720, 2014.

SARAIVA, A. M.; SARAIVA, C. L.; CORDEIRO, R. P.; SOARES, R. R.; XAVIER, H. S.; CAETANO, N. Atividade antimicrobiana e sinérgica das frações das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engl. frente a clones multirresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Rev. Bras. Plantas med**, v. 15, n. 2, p. 199-207, 2013.

SCALLAN, E.; HOEKSTRA, R. M.; ANGULO, F. J.; TAUXE, R. V.; WIDDOWSON, M. A.; ROY, S. L.; JONES, J. L.; GRIFFIN, P. M. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. **Emerging infectious diseases**, v. 17, n. 1, 2011.

SCHENKEL, E. P.; SIMOES, C. M. O.; MENGUE, S. S.; MENTZ, L. A.; IRGANG, B. E.; STRHMANN, J. R. O espaço das plantas medicinais e suas formas derivadas na medicina científica. **J. Bras. Fitomed.** São Paulo, v.3, n.4, p.139-141, 2005.

SHANE, A. L.; HANSEN, N. I.; STOLL, B. J.; BELL, E. F.; SÁNCHEZ, P. J.; SHANKARAN, S.; HIGGINS, R. D. Methicillin-resistant and susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia and meningitis in preterm infants. **Pediatrics**, v. 129, n. 4, p. e914-e922, 2012.

SHI, Z. Y.; ZHAO, Z. J.; JIA, W.; LI, G.; YANG, X. Y.; ZHANG, N.; WEI, J. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* [J]. **Chinese Journal of Nosocomiology**, v. 14, p. 009, 2011.

SHIFERAW, B.; SOLGHAN, S.; PALMER, A.; JOYCE, K.; BARZILAY, E. J.; KRUEGER, A.; CIESLAK, P. Antimicrobial susceptibility patterns of *shigella* isolates in foodborne diseases active surveillance network (foodnet) sites, 2000–2010. **Clinical infectious diseases**, v. 54, n. suppl 5, p. S458-S463, 2012.

SHLAES, D. M.; GERDING, D. N.; JOHN, J. F.; CRAIG, W. A.; BORNSTEIN D. L.; DUNCAN, R. A.; ECKMAN, M. R.; FARRER, W. E.; GREENE, W. H.; LORIAN, V.; LEVY, S.; MCGOWAN, J. E.; PAUL, S. M.; RUSKIN, J.; TENOVER, F. C.; WATANAKUNAKORN, C. Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial Resistance: guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. **Clinical infectious diseases**, v. 25, n. 3, p. 584-599, 1997.

SILVA, A. P.; SILVA, M. P.; OLIVEIRA, C. G.; MONTEIRO, D. C.; PINTO, P. L.; MENDONÇA, P. L.; MENDONÇA, R. Z.; COSTA JÚNIOR, J. S.; FREITAS, R. M.; MORAES, J. Garcinielliptone FC: Antiparasitic activity without cytotoxicity to mammalian cells. **Toxicology in Vitro**, v. 29, n. 4, p. 681-687, 2015.

SILVA, E. M.; ROGEZ, H.; LARONDELLE, Y. Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. **Separation and Purification Technology**, v. 55, n. 3, p. 381-387, 2007b.

SILVA, E. M.; SOUZA, J. N. S.; ROGEZ, H.; REES, J. F.; LARONDELLE, Y. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. **Food Chemistry**, v. 101, n. 3, p. 1012-1018, 2007a.

SILVA, F. R. Avaliação da atividade antibacteriana de extratos de *Annona Muricata* L. (Annonaceae). Trabalho de Conclusão de Curso na forma de Artigo Científico da Universidade Estadual da Paraíba, 2012.

SILVA, M. R.; ROTHSCHILD, H. A. Fundamentos da farmacologia e suas aplicações à terapêutica: por m. Rocha e silva, com a colaboração de hanna a. Rothschild et al. 1968.

SILVA, N. Manual de métodos de análise Microbiologia de Alimentos. São Paulo, 1997.

SILVA, A. R. A.; LUIZA, M. C. L. S.; WERNECK, L. S.; TEIXEIRA, C. H. Infecções relacionadas à assistência à saúde por *Staphylococcus coagulase negativa* em unidade de terapia intensiva neonatal. **Rev Bras Ter Intensiva**, v. 25, n. 3, p. 239-244, 2013.

SIQUEIRA, E. P.; ANDRADE, A. A.; SOUZA-FAGUNDES, E. M.; RAMOS, J. P.; KOHLHOFF, M.; NUNES, Y. R. F.; VELOSO, M. D. M.; CAMPOS, F. F.; JOHANN, S.; ALVES, T. M. A.; ZANI, C. L.; COTA, B. B. In vitro antibacterial action on methicillin-susceptible (MSSA) and methicillin-resistant (MRSA) *Staphylococcus aureus* and antitumor potential of *Mauritia flexuosa* L. f. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 8, n. 48, p. 1408-1417, 2014.

SMITH-PALMER, A.; STEWART, J.; FYFE, L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. **Letters in applied microbiology**, v. 26, n. 2, p. 118-122, 1998.

SOUSA, C. M. M. D.; MOURA, M. E. B.; SANTOS, A. M. R. D.; NUNES, B. M. V. T.; ALVES, M. D. S. C. F. Responsabilidade civil dos profissionais de enfermagem nos procedimentos invasivos. **Rev Bras Enferm**, v. 62, n. 5, p. 717-22, 2009.

SOUSA, M. A. B.; MENDES, E. N.; COLLARES, G. B.; PÉRET-FILHO, L. A.; PENNA, F. J.; MAGALHÃES, P. P. *Shigella* in Brazilian children with acute diarrhoea: prevalence, antimicrobial resistance and virulence genes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, n. 1, p. 30-35, 2013.

SOUZA, A. C.; CARVALHO, F. A. A.; CARNEIRO, S. M. P.; CHAVES, M. H.; SOUSA, C. M. M. Avaliação de extratos e frações obtidas da casca do fruto de *Platonia insignis* Mart. (bacuri) sobre *Leishmania amazonenses*. Iniciação Científica. (Graduando em Farmácia) - Universidade Federal do Piauí, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 2010.

SOUZA, C. M. P.; BRANDÃO, D. O.; SILVA, M. S. P. 2.; PALMEIRA, A. C.; SIMÕES, M. O. S.; MEDEIROS, A. C. D. Utilização de plantas medicinais com atividade antimicrobiana por usuários do Serviço Público de Saúde em Campina Grande-Paraíba. **Rev. Bras. Pl. Med**, v. 15, n. 2, p. 188-193, 2013.

SOUZA, J. N.; SILVA, E. M.; LOIR, A.; REES, J. F.; ROGEZ, H.; LARONDELLE, Y. Antioxidant capacity of four polyphenol-rich Amazonian plant extracts: A correlation study using chemical and biological in vitro assays. **Food Chemistry**, v. 106, n. 1, p. 331-339, 2008a.

SOUZA, V. C. **Botânica Sistemática: Guia Ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2 ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, p. 85, 2008b.

STROHL, W. R. The role of natural products in a modern drug discovery program. **Drug discovery today**, v. 5, n. 2, p. 39-41, 2000.

STROHL, W. A.; ROUSE, H.; FISHER, B. D. microbiologia ilustrada. Porto Alegre: Artmed, 2004.

SUNG, K.; KIMURA, T.; PAUL, P. H.; GUO, J. X. **International collation of traditional and folk medicine**. World scientific, 1998.

SVETAZ, L.; ZULJAN, F.; DERITA, M.; PETENATTI, E.; TAMAYO, G.; CÁCERES, A.; GUPTA, M. Value of the ethnomedical information for the discovery of plants with antifungal properties. A survey among seven Latin American countries. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 1, p. 137-158, 2010.

TALUNDZIC, E.; OKOTH, S. A.; CONGPUONG, K.; PLUCINSKI, M. M.; MORTON, L.; GOLDMAN, I. F.; WONGSRICHANALAI, C.; SATIMAI, W.; BARNWELL, J. W.; UDHAYAKUMAR, V. Selection and Spread of Artemisinin-Resistant Alleles in Thailand Prior to the Global Artemisinin Resistance Containment Campaign. **PLoS Pathog**, v. 11, n. 4, p. e1004789, 2015.

TAM, V. H.; ROGERS, C. A.; CHANG, K. T.; WESTON, J. S.; CAEIRO, J. P.; GAREY, K. W. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia on patient outcomes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, v. 54, n. 9, p. 3717-3722, 2010b.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 33, n. 3, p. 281-301, 2000.

TEKWU, E. M.; PIEME, A. C.; BENG, V. P. Investigations of antimicrobial activity of some Cameroonian medicinal plant extracts against bacteria and yeast with gastrointestinal relevance. **Journal of ethnopharmacology**, v. 142, n. 1, p. 265-273, 2012.

TEMIZ, H.; GÜL, K. Investigation of malaria in blood donors and comparison of the optimal rapid malaria test to the classical method. **Turk Parasit Derg**, 32: 99-102, 2008.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. Artmed, 2012.

TURNIDGE, J.; PATERSON, D. L. Setting and revising antibacterial susceptibility breakpoints. **Clinical microbiology reviews**, v. 20, n. 3, p. 391-408, 2007.

TUROLLA, M. S.; NASCIMENTO, E. S. informações toxicológicas de algumas plantas fitoterápicas utilizadas no Brasil. **Revista Brasileira de ciências Farmacêuticas**, v.42, p.289-306, 2006.

VALE, C. R. Avaliação da atividade tóxica, genotóxica e antigenotóxica de *Hymenaea courbaril* em camundongos e *Drosophila melanogaster*. Mestrado em Biologia, Universidade de Goiás, 2012.

VANDEN, B. A.; VLIETINCK, A. J. Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. In *methods in plant biochemistry* ed. Dey PM and Harborne JB. 1991.

VIEIRA JUNIOR, G.M.; SOUZA, C.M.L.; CHAVES, M.H. Resina de *Protium heptaphyllum*: isolamento, caracterização e avaliação das propriedades térmicas. *Química Nova*, v.28, n.2, p.183-187, 2005.

VIEIRA, G. H. F.; MOURÃO, J. A.; ANGELO, A. M.; COSTA, R. A.; VIEIRA, R. H. S. F. Antibacterial effect (in vitro) of *Moringa oleífera* and *Annona muricata* against Gram positive and Gram negative bacteria. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 52, n. 3, p. 129-132, 2010.

VIEIRA, R. V.; MARTINS, M. V. Genetic resources of Brazilian Cerrado medicinal plants. **Revista Brasileira de Plantas Medicináveis**, v. 3, n. 1, p. 13-36, 2000.

VINCENT, B. M.; LANCASTER, A. K.; SCHERZ-SHOVAL, R.; WHITESELL, L.; LINDQUIST, S. Fitness trade-offs restrict the evolution of resistance to amphotericin B. 2013.

VIRTUOSO, S.; DAVET, A.; DIAS, J.F.G.; CUNICO, M. M.; MIGUEL, M.D.; OLIVEIRA, A.B.; MIGUEL, O.G. Estudo Preliminar da Atividade Antibacteriana das cascas de *Erythrina velutina* Willd, Fabaceae (leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15,137-142p, 2005.

VISWANATHAN, V. K.; HODGES, K.; HECHT, G. Enteric infection meets intestinal function: how bacterial pathogens cause diarrhoea. **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, n. 2, p. 110-119, 2009.

VLIEGHE, E. R.; FEN, T.; DE SMET, B.; VENG, H. C.; KHAM, C.; LIM, K.; OLIVIER KOOLE, O.; LUT LYNEN, L.; PEETERMANS, W. L.; JACOBS, J. A. Bloodstream infection among adults in Phnom Penh, Cambodia: key pathogens and resistance patterns. **PLoS One**, v. 8, n. 3, p. e59775, 2013.

WALKER, C. L. F.; RUDAN, I.; LIU, L.; NAIR, H.; THEODORATOU, E.; BHUTTA, Z. A.; BLACK, R. E.; O'BRIEN, K. L.; CAMPBELL, H.; ROBERT E BLACK, R. E. Global burden of childhood pneumonia and diarrhoea. **The Lancet**, v. 381, n. 9875, p. 1405-1416, 2013.

WALSH, C. Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. **Nature**, v. 406, n. 6797, p. 775-781, 2000.

WANG, J.; ZHOU, J. Y.; QU, T. T.; SHEN, P.; WEI, Z. Q.; YU, Y. S.; LI, L. J. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Chinese hospitals. **International journal of antimicrobial agents**, v. 35, n. 5, p. 486-491, 2010.

WANG, T. S.; Lii, C. K.; Huang, Y. C.; Chang, J. Y.; Yang, F. Y. Anticlastogenic effect of aqueous extract from water yam (*Dioscorea alata* L.). **J Med Plants Res**, v. 5, p. 6192-202, 2011.

WEI, S. D.; CHEN, H.; YAN, T.; LIN, Y. M.; ZHOU, H. C. Identification of antioxidant components and fatty acid profiles of the leaves and fruits from *Averrhoa carambola*. **LWT-Food Science and Technology**, v. 55, n. 1, p. 278-285, 2014.

WEISBURGER, J. H. Chemopreventive effects of cocoa polyphenols on chronic diseases. **Experimental Biology and Medicine**, v. 226, n. 10, p. 891-897, 2001.

WELLS, T. N.; BURROWS, J. N.; BAIRD, J. K. Targeting the hypnozoite reservoir of *plasmodium vivax*: the hidden obstacle to malaria elimination. **Trends Parasitology**, v. 26, p. 145-151, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Cholera, 2013. **Wkly Epidemiol Rec**, v. 89, n. 31, p. 345-56, 2014b.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global plan for artemisinin resistance containment (GPARC). 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. The Global Burden of Disease- 2004 UPDATE. WHO Press, 2008. 146p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Health Organization report on infectious diseases 2000—overcoming antibiotic resistance. **World Health Organization, Geneva, Switzerland**. <http://www.WHO.Int/infectious-disease-report/2000/index.Html>, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Malaria Report 2013. Geneva, 2014. **There is no corresponding record for this reference**, 2014c.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Worldwide country situation analysis: response to antimicrobial resistance. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial resistance: global report on surveillance**. World Health Organization, 2014a.

WUNDERINK, R. G.; NIEDERMAN, M. S.; KOLLEF, M. H.; SHORR, A. F.; KUNKEL, M. J.; BARUCH, A.; MCGEE, W. T.; REISMAN, A.; CHASTRE, J. Linezolid in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nosocomial pneumonia: a randomized, controlled study. **Clinical Infectious Diseases**, v. 54, n. 5, p. 621-629, 2012.

XAVIER, W. K. S.; MEDEIROS, B. J.; LIMA, C. S.; FAVACHO, H. A.; ANDRADE, E. H. A.; ARAÚJO, R. N. M.; SANTOS, L. S.; CARVALHO, J. C. T. Topical anti-inflammatory action of *Caryocar villosum* oil (Aubl) Pers. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, Vol. 01, pp. 62-67, 2011.

XIAO, Y. H.; GISKE, C. G.; WEI, Z. Q.; SHEN, P.; HEDDINI, A.; LI, L. J. Epidemiology and characteristics of antimicrobial resistance in China. **Drug resistance updates**, v. 14, n. 4, p. 236-250, 2011.

YAPAR, N. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. **Therapeutics and clinical risk management**, v. 10, p. 95, 2014.

YOKOE D. S.; ANDERSON, D. J.; BERENHOLTZ, S. M.; CALFEE, D. P.; DUBBERKE, E. R.; ELLINGSON, K.; GERDING, D. N.; HAAS, J.; KEITH S.; KAYE, K. S.; KLOMPAS, M.; LO, E.; MARSCHALL, J.; MERMEL, L. A.; NICOLLE, L.; SALGADO,

C.; BRYANT, K.; CLASSEN, D.; CRIST, K.; FOSTER, N.; HUMPHREYS, E.; PADBERG, J.; PODGORNÝ, K.; VANAMRINGE, M.; WEAVER, T.; ROBERT WISE, R.; LISA L.; MARAGAKIS, L. L. Introduction to "A Compendium of Strategies to Prevent Healthcare-Associated Infections in Acute Care Hospitals: 2014 Updates". **Infection Control**, v. 35, n. 05, p. 455-459, 2014.

YOUNES, S. S.; KHALAF, R. A. The *Candida albicans* Hwp2p can complement the lack of filamentation of a *Saccharomyces cerevisiae* flo11 null strain. **Microbiology**, v. 159, n. Pt 6, p. 1160-1164, 2013.

YUNES, R. A. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna: métodos de estudo, fitoterápicos e fitofármacos, biotecnologia, patente. Argos, 2001.

YUNES, R. A.; FILHO, C. V. Breve análise histórica da química de plantas medicinais: sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas ocidental e oriental. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Argos**, 2001.

ZAOUTIS, T. E.; ARGON, J.; CHU, J.; BERLIN, J. A.; WALSH, T. J.; FEUDTNER, C. The epidemiology and attributable outcomes of candidemia in adults and children hospitalized in the United States: a propensity analysis. **Clinical infectious diseases**, v. 41, n. 9, p. 1232-1239, 2005.

ZARRILLI, R.; POURNARAS, S.; GIANNOULI, M.; TSAKRIS, A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. **International journal of antimicrobial agents**, v. 41, n. 1, p. 11-19, 2013.

ZEA-VERA, A.; OCHOA, T.J. Challenges in the diagnosis and management of neonatal sepsis. **Journal of tropical pediatrics**, p. fmu079, 2015.

ZHANG, J.; JIN, H.; HU, J.; YUAN, Z.; SHI, W.; YANG, X.; MENG, J. Antimicrobial resistance of *Shigella* spp. from humans in Shanghai, China, 2004–2011. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 78, n. 3, p. 282-286, 2014.