



**FAPAC- FACULDADE PRESIDENTE ANTÔNIO CARLOS PORTO
INSTITUTO TOCANTINENSE PRESIDENTE ANTÔNIO CARLOS PORTO LTDA
COORDENAÇÃO DO CURSO DE MEDICINA**

**ALBÉRIO BATISTA DE OLIVEIRA
THALES GUSTAVO MENEZES SANTANA FERREIRA**

**ANÁLISE *IN VITRO* DA AÇÃO ANTIBACTERIANA DE DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES DO EXTRATO DE *Costus spiralis* (COSTACEAE) SOBRE
*Enterococcus faecalis***

**PORTO NACIONAL - TO
2019**

**ALBÉRIO BATISTA DE OLIVEIRA
THALES GUSTAVO MENEZES SANTANA FERREIRA**

**ANÁLISE *IN VITRO* DA AÇÃO ANTIBACTERIANA DE DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES DO EXTRATO DE *Costus spiralis* (COSTACEAE) SOBRE
*Enterococcus faecalis***

Projeto de TCC apresentado junto ao Curso Superior de Medicina como requisito parcial para aprovação na disciplina TCC I no Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos Porto – ITPAC Porto Nacional.

Área: Microbiologia

Orientadora: Profa. Dra. Carina Scolari
Gosch

**PORTO NACIONAL - TO
2019**

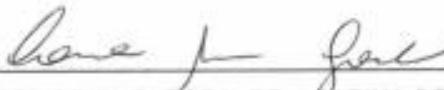
ALBÉRIO BATISTA DE OLIVEIRA
THALES GUSTAVO MENEZES SANTANA FERREIRA

ANÁLISE *IN VITRO* DA AÇÃO ANTIBACTERIANA DO EXTRATO DE *Costus spiralis* (COSTACEAE) SOBRE *Enterococcus faecalis*

Projeto de pesquisa submetido e apresentado ao Curso de Medicina da FAPAC Faculdade Presidente Antônio Carlos ITPAC Porto Nacional, com requisito parcial para aprovação da disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso I.

Aprovado em: 23/05/19

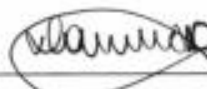
BANCA EXAMINADORA



PROFª. ORIENTADORA. DRª. CARINA SCOLARI GOSCH



PROF. EXAMINADOR I: ME. EDUARDO FERNANDES MARQUES



PROF. EXAMINADOR II: DR. DANIEL RIANI GOTARDELO

PORTO NACIONAL - TO
2019

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	6
1.1	PROBLEMA DA PESQUISA.....	7
1.2	HIPÓTESE.....	7
1.3	JUSTIFICATIVA.....	7
2	OBJETIVOS.....	8
2.1	OBJETIVOS GERAIS.....	8
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	9
4	METODOLOGIA.....	13
4.1	MATERIAL VEGETAL.....	13
4.2	OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO DAS FOLHAS.....	13
4.3	MICROORGANISMO BACTERIANO.....	14
4.4	TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA <i>IN VITRO</i>	14
4.5	DETERMINAÇÃO DA CURVA DE CRESCIMENTO.....	16
4.6	AVALIAÇÃO DA AÇÃO DAS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES.....	16
4.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	17
5	DELINEAMENTO DA PESQUISA.....	18
6	ASPECTOS ÉTICOS.....	19
6.1	RISCOS.....	19
6.2	BENEFÍCIOS.....	19
7	DESFECHO.....	20
7.1	DESFECHO PRIMÁRIO.....	20
7.2	DESFECHOS SECUNDÁRIOS.....	20
8	CRONOGRAMA.....	21
9	ORÇAMENTO.....	22
	REFERÊNCIAS.....	23
	ANEXOS.....	28

RESUMO

Introdução: A espécie *Costus spiralis* é um arbusto popularmente conhecido como caninha-do-brejo, presente em diversas regiões do Brasil, inclusive no Tocantins. É utilizada popularmente como planta medicinal no tratamento de inflamações, leishmanioses, diarreias, hepatites, afecções urinárias, cálculos renais, diabetes, hipertensão arterial sistêmica, taquicardia e outras doenças como irritação nos olhos e para cicatrização. Alguns estudos confirmam seu efeito terapêutico em testes realizados com seu extrato, incluindo comprovada ação antibacteriana para espécies de bactérias gram positivas. Dentre os importantes agentes bacterianos envolvidos no desenvolvimento de infecções do trato urinário, tem-se *Enterococcus faecalis*, uma bactéria gram positiva, cuja a ação desse extrato sobre seu crescimento nunca foi descrito pela literatura. **Objetivos:** O trabalho tem por objetivo preparar o extrato bruto de *C. spiralis* e avaliar os efeitos *in vitro* de diferentes concentrações do extrato sobre *E. faecalis* pelo método de difusão de disco. **Metodologia:** Será realizada coleta e montagem de uma exsicata para identificação da espécie vegetal, após, será preparado um macerado das folhas e com o uso de um rotaevaporador será obtido o extrato etanólico bruto e preparadas soluções com concentrações de 1,5%, 3,1%, 6,2%, 12,5%, 25%, 50% e 100% de extrato. Serão preparadas placas com meio de cultura e realizada inoculação de uma cepa comercial de *E. faecalis*. Em seguida, realizar-se-á o ensaio experimental, através da introdução de discos impregnados com as soluções contendo extrato de *C. spiralis* em diferentes concentrações bem como será realizado o controle com o teste de antibiograma, possibilitando observar ou não sensibilidade às concentrações utilizadas do extrato. Obter-se-á a curva de crescimento de *E. faecalis* e suas possíveis alterações frente às diferentes concentrações de extrato de *C. spiralis* através de mensurações com espectrofotômetro óptico. Os resultados serão expressos em gráficos ou tabelas, após serem avaliados estatisticamente. **Resultados Esperados:** Obter ação antibacteriana contra *Enterococcus faecalis* a partir do extrato de *Costus spiralis*.

Palavras-chave: Planta. Medicinal. Infecção. Antibiótico. Antibiograma.

ABSTRACT

Introduction: The species *Costus spiralis* is a shrub popularly known as caninha-do-brejo, present in several regions of Brazil, including in Tocantins. It is popularly used as a medicinal plant in the treatment of inflammation, leishmaniasis, diarrhea, hepatitis, urinary disorders, kidney stones, diabetes, systemic arterial hypertension, tachycardia and other diseases such as eye irritation and healing. Some studies confirm its therapeutic effect in tests performed with its extract, including proven antibacterial action for species of gram positive bacteria. Among the important bacterial agents involved in the development of urinary tract infections are *Enterococcus faecalis*, a gram-positive bacterium, whose action on its growth has never been described in the literature. **Objectives:** The objective of this work is to prepare the crude extract of *C. spiralis* and to evaluate the in vitro effects of different concentrations of the extract on *E. faecalis* by the disc diffusion method. **Methodology:** An exsiccata will be collected and assembled to identify the plant species, after which a maceration of the leaves will be prepared and with the use of a rotavaporator the raw ethanolic extract will be obtained and solutions with concentrations of 1,5%, 3, 1%, 6.2%, 12.5%, 25%, 50% and 100% of extract. Plates will be prepared with culture medium and inoculation of a commercial strain of *E. faecalis*. Then, the experimental test will be carried out by introducing disks impregnated with solutions containing *C. spiralis* extract in different concentrations, as well as the control will be performed with the antibiogram test, allowing to observe or not sensitivity to the concentrations used of the extract. The growth curve of *E. faecalis* and its possible alterations will be obtained before the different concentrations of *C. spiralis* extract through optical spectrophotometer measurements. The results will be expressed in graphs or tables, after being evaluated statistically. **Expected Results:** Obtain antibacterial action against *Enterococcus faecalis* from the extract of *Costus spiralis*.

Keywords: Plant. Medicinal. Infection. Antibiotic. Antibiogram.

1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais há tempos despertam grande interesse de pesquisadores, instituições de ensino em saúde, indústria farmacêutica, e, até mesmo da cultura tradicional, por exibirem características químicas, estruturais e biológicas com grande capacidade de apresentar potencial terapêutico (COSTA-LOTUFO et al., 2010; BARREIRO & BOLZANI, 2009). O bioma do Cerrado apresenta-se como um dos maiores em biodiversidade do planeta, muitas das suas espécies são utilizadas empiricamente para o tratamento das mais variadas afecções, no entanto, há poucos estudos científicos sobre a eficácia destas plantas medicinais (ALVES et al., 2019; VILA VERDE, 2003).

A espécie vegetal *C. spiralis*, de ampla ocorrência no Cerrado brasileiro, é utilizada empiricamente por muitas comunidades para o tratamento caseiro de diversas doenças, inclusive no tratamento de infecções do trato urinário (ITU). Dentre as espécies de bactérias gram positivas normalmente correlacionadas com o desenvolvimento de ITU, tem-se o *E. faecalis* como um importante agente causador desse tipo de infecção.

A Organização Mundial de Saúde estima que, aproximadamente, 80% da população mundial utilizam a medicina alternativa, e dentro desse *hall* destacam-se as plantas medicinais, como a principal alternativa utilizada, para remediar a ausência de atendimento médico primário (ARAÚJO et al., 2018; ELIZABETSKY, 1997). O uso destas plantas acaba sendo estimulado para fins preventivo, de cura ou para minimizar os sintomas das doenças, de modo a ter um custo mais acessível à população e aos serviços públicos de saúde, quando comparados com medicamentos obtidos por síntese química industrial, que, devido às patentes tecnológicas e processamentos de fabricação envolvidos acabam tendo um custo mais elevado (MENEGUELLI et al., 2017; TOLEDO et al., 2003).

Atualmente, a busca por novos agentes antibióticos é tema crescente nas pesquisas médicas, devido principalmente ao fato do uso irracional de antibióticos ter favorecido a aparição de organismos resistentes à ação desses agentes. Historicamente, muitos fármacos são oriundos de produtos naturais (BOLDI, 2004). Nesse contexto, torna-se imprescindível a busca por plantas medicinais com ação antimicrobiana objetivando a descoberta de novas drogas. O Cerrado, por apresentar

ampla biodiversidade botânico-terapêutica, pode ter espécies utilizadas pela cultura popular no tratamento de infecções que apresentem efetivamente potencial para se tornar um novo produto farmacêutico de ação antimicrobiana.

1.1 PROBLEMA DA PESQUISA

A literatura apresenta muitas bactérias, dentre elas *E. faecalis*, que têm desenvolvido resistência a antibióticos, tanto os de uso convencional, quanto contra os antibióticos de última geração, levando a sérios problemas de saúde pública e despesas econômicas.

1.2 HIPÓTESE

O extrato da planta *Costus spiralis* (COSTACEAE) tem ação antibacteriana sobre *Enterococcus faecalis*?

1.3 JUSTIFICATIVA

A cultura popular usa preparações de *C spiralis* (FERREIRA et al., 2015) para o tratamento empírico de diversas infecções, este achado desperta a necessidade de investigar o efeito antibiótico de *C. spiralis* sobre *E. faecalis*, uma vez que, não existe registro de sua ação na literatura científica para essa bactéria envolvida no desenvolvimento de infecções nosocomiais de difícil tratamento.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos produzidos pelo extrato de *Costus spiralis* em diferentes concentrações sobre o crescimento *in vitro* de uma cepa de *Enterococcus faecalis*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Buscar ativamente a planta nos riachos da região, coletar e identificar de forma sistemática a espécie *C. spiralis*;
- Obter o extrato bruto hidroalcoólico de *C. spiralis*;
- Preparar soluções com diferentes concentrações de extrato bruto de *C. spiralis*;
- Estabelecer a curva de crescimento *in vitro* do *E. faecalis*;
- Avaliar o efeito *in vitro* das diferentes concentrações do extrato de *C. spiralis* sobre uma cepa de *E. faecalis* pelo método de difusão em disco e por fotometria em espectrofotômetro óptico;
- Comparar a eficiência dos extratos de *C. spiralis* com diferentes antibióticos de uso para bactérias gram positivas, no crescimento *in vitro* de *E. faecalis* pelo método de difusão em disco.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

As plantas medicinais são consideradas como sendo vegetais, que, devido suas propriedades químicas, podem ser utilizadas no tratamento de determinadas doenças e comorbidades ou que de alguma forma contribuam para a manutenção ou reintegração da saúde (MARTINS et al., 2003). O uso de plantas medicinais tem se tornado amplamente difundido, principalmente nas últimas décadas, devido ao conhecimento popular ter contribuindo para a divulgação delas no tratamento de diversas afecções.

O interesse da população, a observação dos efeitos em laboratórios e relatos de usuários, têm levado pesquisadores a buscarem cada vez mais a validação do uso desses produtos naturais (HASENCLEVER et al., 2017; CARSON et al., 2006). Dessa maneira, o conhecimento popular fornece importantes sugestões de pesquisas que levam à investigação dos efeitos das plantas medicinais (MACIEL et al., 2002).

O Brasil possui em seu território uma grande variedade de espécies vegetais, sendo considerado o país com a flora mais diversificada do mundo, tendo mais de 55 mil espécies já identificadas, o que equivale a aproximadamente 22% de todas as plantas existentes, em seu território. Diante desses dados, o Brasil é considerado uma grande potência em plantas medicinais, onde a maioria delas encontram-se na região amazônica (CARVALHO et al., 2007). Muitas plantas ainda carecem de estudos científicos que confirmem os seus efeitos terapêuticos (DI STASI & LIMA, 2002). O estudo realizado por Martins et al. (2003) estima que, metade das espécies de plantas brasileiras detenham propriedades medicinais, porém, menos de 1% foi investigada de maneira satisfatória.

Em decorrência de seus hábitos de vida e adaptações biológicas decorrente de suas histórias evolutivas, os vegetais desenvolveram a capacidade de metabolizar substâncias que atuam na defesa contra doenças que porventura venham a lhes acometer, e são esses os metabólitos de interesse médico, que detêm potencial para atuar contra as diversas doenças humanas (SILVA & FERNANDES JÚNIOR, 2010).

Várias plantas medicinais utilizadas popularmente pertencem à ordem Zingiberales (GRACE & DOUGLAS, 2015). Estas, pertencem ao grupo de monocotiledôneas que possuem distribuição pantropical, e inclui diversas plantas amplamente cultivadas, como as bananeiras, canas, gengibre e açafrão (SASS et al.,

2016). São caracterizadas principalmente por apresentarem folhas com vasos de distribuição peninérvea ou paralelinérvea, caules e folhas aerados por câmaras de ar, posição inferior do ovário e a disposição supervoluta das folhas antes do desenvolvimento (DAHLGREN et al., 1985). A ordem das Zingiberales é subdividida em 8 famílias, sendo: Zingiberaceae, Costaceae, Marantaceae, Cannaceae, Lowiaceae, Musaceae, Heliconiaceae e Strelitziaceae (SASS et al., 2016).

A família Costaceae são representadas por plantas perenes, herbáceas de 1,4m a 4m, geralmente terrestres existindo espécies epífitas, com ramos espiralados compostos por folhas de filotaxia em espiral e caules do tipo rizoma, ambos, em diversos tons de verde, inflorescências posicionadas nas pontas dos ramos de cores diversas e destacadas em meio a vegetação (COSTA et al., 2011). Distribuem-se em *habitats* de áreas tropicais e subtropicais, concentrando o maior número de espécies na América do Sul e Central, encontradas principalmente em florestas pluviais e outros ambientes úmidos. A família é constituída por 4 gêneros, sendo, *Costus*, *Monocostus*, *Dimerocostus* e *Tapeinochilos* (ANDRÉ et al., 2016).

O gênero *Costus* é o maior da família, contendo mais de 125 espécies, que tem como características a presença de ramos espiralados seguidos de inflorescências terminais que normalmente produzem de uma a duas flores por dia, possuindo um período de floração estendido e baixa taxa de polinização (GRACE & DOUGLAS, 2015; SPECHT et al., 2001).

A planta conhecida popularmente como “caninha-do-brejo”, “caatinga” ou “cana-de-macaco” é a espécie *Costus spiralis* (Jacq.) Roscoe, localizada na América do Sul tropical, principalmente em florestas chuvosas, savanas, ou em afloramentos graníticos, habitando principalmente margens de riachos e rios (NASCIMENTO et al., 2016; MAAS, 1972). A espécie pode atingir até 2m de altura, suas inflorescências são do tipo racemo com formato semelhante a uma espiga, compostas por brácteas que ficam fechadas e sobrepostas, de tons avermelhados, de onde saem os botões florais e posteriormente desenvolvem os frutos. As flores são vermelhas, sendo a corola formada por três pétalas conectadas na base, com ausência de cheiro (ARAÚJO & OLIVEIRA, 2007).

Na medicina popular brasileira esta espécie tem sido amplamente utilizada como planta medicinal, principalmente em comunidades da região amazônica (DUARTE et al., 2017). Ferreira et al. (2015) relatam a sua utilização para o tratamento

de afecções urinárias e irritação nos olhos. Medeiros et al. (2004) divulgaram o uso contra cálculos renais. Além disso, é utilizada como cicatrizante na cura de feridas, diurético e antidiabético (BRAGA et al., 2007; MARTINS et al., 2003; HABSAH et al., 2000; ALBUQUERQUE, 1989). Outros estudos mostram a utilização como anti-hipertensivo e contra disfunção renal (ARAÚJO & OLIVEIRA, 2007), contra dores na bexiga e na uretra, tratamento de taquicardia (CORRÊA, 1984), como antioxidante e contra infecções por bactérias (HABSAH et al., 2000). Uso para ação anti-inflamatória também foi registrado (SILVA & PARENTE, 2004), além de utilização contra infecções fúngicas e no tratamento de leishmanioses (BRAGA et al., 2007), bem como, contra dores abdominais, diarreias intensas e hepatite (DI STASI & LIMA, 2002).

Braga et al. (2007) utilizando-se de extratos metanólicos de *Costus spiralis* puderam constatar a presença de alcaloides, flavonoides e esteroides em sua constituição.

Estudos já realizados com a espécie têm corroborado os efeitos terapêuticos utilizando-se de seus extratos vegetais, confirmando as suas propriedades medicinais devido ações hipoglicemiantes, antilipídêmicas e antioxidantes em experimentos com ratos (DUARTE et al., 2019), ação contra *Leishmania chagasi* e *Leishmania amazonenses* (BRAGA et al., 2007), capacidade anti-inflamatória, inibição da permeabilidade vascular, proteção cardiovascular e antiaterosclerótica (SILVA & PARENTE, 2004), e atividade antiurolítica em cálculos renais formados por cristais de oxalato de cálcio em cobaias (VIEL et al., 1999). Testes em colônias de bactérias também foram realizados, *in vitro*, utilizando-se extratos da planta, permitindo confirmar a sua atividade antibacteriana para *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Shigella sonnei*, *Salmonella entérica* e *Vibrio cholerae* (ALNAHDI et al., 2017; PÉREZ et al., 2008; BOUZADA et al., 2009).

Dentre as doenças tratadas empiricamente com *C. spiralis*, as infecções do trato urinário (ITU) são consideradas importantes complicações infecciosas, normalmente causadas por bacilos gram-negativos e bactérias resistentes, como *Enterococcus* (RESENDE et al., 2016; HEILBERG & SCHOR, 2003).

As bactérias *Enterococcus spp.* são caracterizadas como cocos gram positivos dispostos em pares e em cadeias curtas. São microrganismos anaeróbios facultativos e de colônias geralmente não hemolíticas, mas algumas podem ser alfa ou beta hemolítica, catalase negativos (ZANDONÁ & SOUZA, 2017; PARADELLA et al.,

2007). O trato gastrointestinal é o principal reservatório de *Enterococcus* no corpo humano, porém também podem viver na cavidade oral, vesícula biliar, vagina e uretra masculina (KONEMAN et al., 2001). Grande parte das infecções por *Enterococcus* são originadas da microbiota normal do próprio paciente, no entanto, existe a possibilidade de transferência entre pacientes ou transmissão através do uso de água ou alimentos contaminados (MURRAY et al., 2004). São considerados microrganismos comensais de grande importância médica por, frequentemente, serem a causa de infecções em pacientes hospitalizados por um longo período de tempo e/ou que foram tratados com múltiplos tipos de antibióticos (TEIXEIRA & FACKLAM, 2003). Já foram considerados microrganismos comensais inofensivos, porém pesquisas evidenciam de forma crescente, o potencial do *Enterococcus* de sobreviver em ambiente hospitalar, colonizar pacientes e causar infecções como bacteremia, peritonite, endocardite e infecções do trato urinário (SAVA et al., 2010).

Os *Enterococcus* parecem ter adquirido ao longo do tempo uma capacidade de acumular e compartilhar elementos cromossômicos que possuem características de codificar tanto virulência como genes de resistência a antimicrobianos, talvez isso explique sua crescente presença em ambientes hospitalares, sendo a principal espécie relacionadas a essas infecções em seres humanos, *E. faecalis* (SHARIFI et al., 2013).

Têm-se destacado por apresentar resistência a vários antibióticos e têm adquirido novos fenótipos de resistência, evidenciando-se os *E. faecalis* resistentes à vancomicina (NUÑEZ et al., 2016; WILLEMS & BONTEN, 2007).

Diante dessas considerações, as infecções por *E. faecalis* tornam-se preocupantes, sendo necessário a investigação e descoberta de produtos antimicrobianos alternativos aos já utilizados, cuja a eficiência apresenta-se comprometida pela aquisição de resistência aos antibióticos apresentada por essa espécie bacteriana.

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIAL VEGETAL

No mês de Abril de 2019 foram coletados no Estado do Tocantins, cidade de Divinópolis do Tocantins, às margens do riacho Suçuarana, tributário do Ribeirão Piedade, exemplares da espécie *C. spiralis* para herborização com a técnica usual de Fidalgo & Bononi (1984), onde, cortou-se galhos contendo inflorescências e folhas, que foram inseridos em uma prensa de madeira e levados a uma estufa, no Herbário da Universidade Federal do Tocantins (UFT), *Campus* Porto Nacional, para desidratação, montagem de uma exsicata, confirmação taxonômica da espécie e incorporação ao acervo (Anexo A). Após confirmação da espécie, outras coletas serão realizadas, no mesmo local, nos meses de maio e junho de 2019, para utilização na fabricação do extrato bruto.

4.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO DAS FOLHAS DE *C. spiralis*

As folhas da *C. spiralis* serão pesadas, lavadas e secas a 55°C por um período de 72 horas em estufa de ar circulante. As folhas secas serão trituradas em liquidificador e maceradas com etanol 97°GL por 72 horas. Após esse período, a solução etanólica obtida será evaporada sob pressão reduzida em um rotaevaporador, com temperatura controlada em 45°C. O solvente recuperado será novamente adicionado às folhas e submetido à maceração por mais 72 horas, a seguir filtrado e evaporado. Esse procedimento será repetido por mais duas vezes, num total de quatro extrações. Os extratos obtidos serão reunidos formando o extrato etanólico bruto. Em seguida, será pesado em balança analítica e o seu rendimento calculado pela seguinte fórmula: $\text{Rendimento} = (\text{peso extrato bruto (g)} / \text{peso folhas secas (g)}) \times 100$ (FERREIRA, 2013).

Preparação das soluções dos extratos: As soluções serão preparadas através de diluição seriada de razão 2. Para realizar as diluições utiliza-se 1mL de água destilada estéril, em tubo de ensaio estéril e será adicionado 1mL do extrato bruto (100%) de *C. spiralis*, após agitação dessa solução por 5 minutos, obtêm-se a solução

de concentração de 50% do extrato. A partir desta solução, seguindo a mesma técnica serão obtidas as demais concentrações 25%, 12,5%, 6,2%, 3,1% e 1,5%.

4.3 MICRORGANISMO BACTERIANO

Será utilizada uma cepa bacteriana de referência, utilizada como padrão para controle de qualidade em laboratórios de Microbiologia e testes de suscetibilidade a antimicrobianos, comercializada pela NewProv. O microrganismo encontra-se estabilizado em discos liofilizados numa concentração acima de 100.000UFC/mL. Serão utilizadas bactérias gram-positivas da espécie *Enterococcus faecalis* (NewProv-0012).

O disco contendo os microrganismos será revitalizado através dos seguintes procedimentos: Com uma pinça flambada e resfriada, o disco será removido assepticamente do seu frasco de origem e colocado em 3mL de caldo nutritivo BHI (Brain Heart Infusion). O tubo será identificado e incubado a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ em estufa bacteriológica até turvação visível (2–3 horas). Após, com auxílio de uma alça calibrada de 100 microlitros, serão inoculados os microrganismos em placa de meio nutritivo não seletivo (Ágar Nutriente) pela técnica de esgotamento e novamente incubados à $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

4.4 TESTE DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* - ANTIBIOGRAMA (MÉTODO DE DIFUSÃO COM DISCOS DE BAWER E KIRBY)

Preparação de placas e meios de cultura: O meio de Ágar Mueller-Hinton (MH) deve ser preparado previamente fundido, esterilizado e resfriado a $45\text{--}50^{\circ}\text{C}$. Em seguida, deve ser derramado em placa de petri de 150mm de diâmetro até atingir uma espessura de aproximadamente 4mm.

Preparação do inóculo: As culturas puras de bactérias *E. faecalis* (NEWPROV-0012) serão cultivadas em caldo nutritivo a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas após a revitalização, tempo suficiente para que a suspensão bacteriana apresente turbidez moderada. A densidade do inóculo a partir de então, será controlada por diluição com

soro fisiológico para se obter uma densidade de turbidez equivalente àquela obtida pela adição de 0,5mL de solução de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,048M) em 99,5mL de H_2SO_4 0,36N – Escala de McFarland.

Discos de antibióticos e extratos de *C. spiralis*: A sensibilidade da cepa de *E. faecalis* frente aos antibióticos será realizada utilizando o sistema de multidiscos gram positivo da marca DME (POLISENSIDISC 15: Azitromicina, Cefoxitina, Linezolida, Rifampicina, Sulfazotrim, Clindamicina, Eritromicina, Oxacilina, Penicilina G, Vancomicina, Ampicilina, Ciprofloxacina, Cloranfenicol, Gentamicina e Tetraciclina), onde todos os antibióticos em suas concentrações específicas estão impregnados em papel absorvente de 5mm de diâmetro. A avaliação da sensibilidade frente aos extratos de *C. spiralis* (1,5%, 3,12%, 6,25%, 25%, 50% e 100%) será feita de maneira similar, com os extratos impregnados em papel absorvente estéril de 5mm de diâmetro.

Inoculação das placas: Swabs estéreis de algodão serão mergulhados na suspensão bacteriana e o excesso removido pressionando o algodão contra a parede do tubo. A suspensão bacteriana será semeada de maneira uniforme sobre a superfície estéril do Agar MH e os discos de antibióticos ou impregnados com os extratos serão distribuídos espaçadamente sobre o inóculo.

Incubação: As placas de antibiograma serão incubadas sob condições aeróbicas, numa temperatura constante na faixa de $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas.

Resultados: Os halos de inibição do crescimento serão mensurados com o auxílio de paquímetro e comparados, classificando então, os microrganismos como resistentes ou sensíveis aos diferentes produtos avaliados. Para a análise da sensibilidade aos antibióticos, será usada a tabela padrão (Anexo B) fornecida pelo sistema de multidiscos da DME (POLISENSIDISC 15), os halos de inibição provenientes das diferentes concentrações do extrato de *C. spiralis* serão comparados aos dos antibióticos que apresentarem ação de inibição do crescimento dos *E. faecalis*.

4.5 DETERMINAÇÃO DA CURVA DE CRESCIMENTO *IN VITRO* DO *E. faecalis*

Para determinação da curva de crescimento do *E. faecalis*, a quantificação celular será estimada através da avaliação da densidade óptica, com comprimento de onda de 600nm, em espectrofotômetro óptico, (TORTORA, 2005). Os microrganismos revitalizados em 3mL de caldo BHI após 3 horas de incubação serão transferidos para um frasco erlenmeyer contendo 57mL de caldo BHI. Quatro horas após a inoculação dos microrganismos no caldo, a cultura bacteriana será homogeneizada e uma alíquota de 2mL será retirada para medição da massa celular em espectrofotômetro. Este procedimento será repetido sucessivamente, a cada quatro horas, ao longo das 48 horas de incubação da cultura inoculada, a 37°C. Um frasco contendo BHI estéril será utilizado ao longo do experimento para zerar o espectrofotômetro nos momentos de avaliação da densidade óptica. Ao final das 48 horas, será traçado a curva de crescimento de *E. faecalis* e será determinado o período de crescimento exponencial - fase log, e de estabilidade - fase estacionária (KONEMAN et al., 2001).

4.6 AVALIAÇÃO DA AÇÃO DAS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO EXTRATO BRUTO DE *C. spiralis* SOBRE A CURVA DE CRESCIMENTO *IN VITRO* DE *E. faecalis*.

As diferentes concentrações do extrato bruto de *C. spiralis* serão preparadas conforme explicado anteriormente (item 4.2), utilizando como solvente o meio BHI para as diluições seriadas. Após, serão inoculados em cada uma das diferentes concentrações de extrato de *C. spiralis*, 1mL de cultura de *E. faecalis* em período de crescimento exponencial intermediário de sua fase log e após 4 horas de incubação à 37°C, alíquotas serão colhidas para mensuração da massa celular em espectrofotômetro. Tubos de ensaio contendo os controles, com meio BHI, serão utilizados no experimento para zerar o espectrofotômetro no momento de avaliação da densidade óptica, usando comprimento de onda de 600nm. Após a leitura, será realizado o cálculo de correção para o fator de diluição empregado.

4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados serão apresentados como média $\pm$ EPM. Os resultados expressos em gráficos ou tabelas, após serem avaliados estatisticamente por meio de: test t pareado de Wilcoxon ou por ANOVA Kruskal-Wallis, seguido de teste de Dunn ou por One-Way ANOVA/Bonferroni ou por Two-Way ANOVA. O nível de significância será estabelecido em $p < 0,05$. As análises serão feitas utilizando o GraphPadPrism 4.0 Software.

5 DELINEAMENTO DA PESQUISA

Realizar-se-á coleta de galhos da espécie vegetal *Costus spiralis* nas margens de rios ou riachos nas cidades de Palmas – TO e Divinópolis-TO, para identificação taxonômica e incorporação em um acervo e posterior fabricação de um extrato etanólico bruto a partir do qual será preparado soluções com concentrações de 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12% e 1,5% que serão impregnados em discos de papel filtro e inseridos em placas de Petri contendo culturas de *Enterococcus faecalis*. Outros discos impregnados com diferentes antibióticos para bactérias gram-positivas serão testados nas mesmas culturas visando uma posterior comparação de sensibilidade por meio da mensuração dos halos de inibição de cada disco através de testes estatísticos.

6 ASPECTOS ÉTICOS

6.2 RISCOS

Em decorrência dos deslocamentos aos locais de coleta e experimentações, é possível a ocorrência de acidentes automobilísticos envolvendo os autores. Devido as incursões em campo em busca dos materiais vegetais, com busca ativa pela espécie em estudo nas margens de rios ou riachos, existe a possibilidade de acidentes envolvendo contato com animais silvestres e/ou peçonhentos, plantas tóxicas, quedas, insolação ou desidratação da equipe de pesquisa. Em ambiente laboratorial existe o risco de acidentes com o manejo de materiais perfurocortantes, intoxicação nos processos de fabricação do extrato vegetal ou pelo contato direto com o mesmo, e contaminação com o microrganismo em estudo. Probabilidade de gerar conhecimento generalizável, desencadeando o uso incorreto da planta.

Para redução dos riscos, os deslocamentos em veículo automotor serão realizados de acordo com o Código de Trânsito Brasileiro. Nos adentramentos em ambiente de mata serão utilizadas vestimentas de manga cumprida, calça jeans, calçado fechado, boné, uso de protetor solar, alimentação e hidratação adequada. Em laboratório serão seguidos os procedimentos de biossegurança em todo o manejo dos experimentos.

6.3 BENEFÍCIOS

Possibilidade de descoberta do efeito antimicrobiano da planta *Costus spiralis* contra uma importante espécie de bactéria multirresistentes, *Enterococcus faecalis*.

7 DESFECHO

7.2 DESFECHO PRIMÁRIO

Constatar de maneira inédita a capacidade antibacteriana do extrato de *C. spiralis* contra cepa de *E. faecalis*.

7.3 DESFECHOS SECUNDÁRIOS

Localizar *C. spiralis* no hábitat natural, coletar, catalogar, identificar e armazenar alguns exemplares em uma coleção botânica. Fabricar o extrato bruto de *C. spiralis* e, através deste, obter diferentes soluções com diferentes concentrações. Testar as soluções em *E. faecalis* e determinar a ação antibacteriana das diferentes concentrações. Pretende-se utilizar os dados para divulgação por meio de apresentações em congressos da área e desenvolver um artigo científico seguido de publicação em revista científica de importante reconhecimento.

9 ORÇAMENTO

Quadro 02 - Orçamento

CATEGORIA: Gastos Com Recursos Materiais			
Qtd	Descrição de Produtos/Serviços	Valor Unitário	Valor Total
3 L	AlcoolEtilico Abs. 99,5% PaAcs 1000ml	R\$ 20,00	R\$ 60,00
500 unidades	Swabs estéreis	R\$ 0,06	R\$ 30,00
1 L	Água destilada estéril	R\$ 10,00	R\$ 10,00
1 unidade	<i>Enterococcus faecalis</i> NEWP 0012	R\$ 25,00	R\$ 25,00
50 gramas	Caldo nutritivo BHI	R\$ 55,00	R\$ 55,00
50 gramas	Caldo nutritivo Nutriente	R\$ 55,00	R\$ 55,00
50 gramas	Agár Mueller Hinton	R\$ 50,00	R\$ 50,00
500 ML	Soro fisiológico	R\$ 8,00	R\$ 8,00
1 unidade	Escala de McFarland	R\$ 95,00	R\$ 95,00
1 unidade	Multifar 15 (G+)	R\$ 112,00	R\$ 112,00
1 caixa	Filtro de papel qualitativo 18,5 cm de diâmetro	R\$ 50,00	R\$ 50,00
Subtotal			R\$ 550,00

CATEGORIA: Gastos Com Recursos Humanos			
Qtd	Descrição de Produtos/Serviços	Valor unitário	Valor Total
250 L	Combustível	R\$ 4,49	R\$ 1.122,50
30 unidades	Alimentação	R\$ 15,00	R\$ 450,00
50 unidades	Água mineral 500mL	R\$ 2,00	R\$ 100,00
Subtotal			R\$ 1.672,50

FINANCIAMENTO TOTAL DA PESQUISA	
CATEGORIAS	Valor Total
Gastos Com Recursos Materiais	R\$ 550,00
Gastos Com Recursos Humanos	R\$ 1.672,50
TOTAL GERAL DO INVESTIMENTO	R\$ 2.222,50

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, J. M. **Plantas medicinais de uso popular**. Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior (ABEAS). Brasília: Ministério da Agricultura, 1989.
- ALNAHDI, H. S.; DANIAL, E. N.; ELHALWAGY, M. E. A. E.; AYAZ, N. O. Phytochemical Studies, Antioxidant Properties and Antimicrobial Activities of Herbal Medicinal Plants *Costus* and *Cidir* Used in Saudi Arabia. **International Journal of Pharmacology**. [S.l.], v.13, n.5, p. 481-487, 2017.
- ALVES, C. C. F. et al. Antiproliferative activity of essential oils from three plants of the Brazilian Cerrado: *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae), *Protium vatum* (Burseraceae) and *Cardiopetalum calophyllum* (Annonaceae). **Braz. J. Biol.**, São Carlos, 2019
- ANDRÉ, T.; SALZMAN, S.; WENDT, T.; SPECHT, C. D. Speciation dynamics and biogeography of Neotropical spiral gingers (Costaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**. [S.l.], v. 103, n.1, p. 55-63, 2016.
- ARAÚJO, F. P.; OLIVEIRA, P. E. Biologia floral de *Costus spiralis* (Jacq) Roscoe (Costaceae) e mecanismos para evitar a autopolinização. **Rev. Bras. Bot.**, [S.l.], v. 30, n.1, p. 61-67, 2007.
- ARAUJO, A. P. S. R.; RODRIGUES, W.; SILVA, W. S.; SOUSA, P. A. B. Biotecnologia e desenvolvimento regional: o caso da indústria de medicamentos de uso humano e fitoterápicos no Brasil e na região da Amazônia Legal. **Rev. Bras. Gestão G&DR**, [S.l.], v.14, n.2, p. 428-454, 2018.
- BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**. Sociedade Brasileira de Química, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.
- BRAGA, F. G.; BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; MATOS, M. O.; MOREIRA, F. O.; SCIO, E.; COIMBRA, E. S. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, [S.l.], v.111, n. 2, p. 396-402, maio 2007.
- BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; DUARTE, G. G.; SCIO, E. Busca de novas drogas antimicrobianas a partir de vegetais. **UFJF Online**, Juiz de Fora, 2009. Disponível em <http://www.ufjf.br/principia/files/2009/09/071.pdf>. Acesso em: 23 out. 2018.
- BOLDI, A. M. Libraries from natural product-like scaffolds. **Current Opinion in Chemical Biology**, [S.l.], v.8, n.3, p. 281-286, jun. 2004.
- CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984.

CARSON, C. F.; HAMMER, K. A.; RILEY, T. V. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.l.], v.19, n.1, p. 50-62, 2006.

CARVALHO, A. C. B.; NUNES, D. S. G.; BARATELLI, T. G.; SHUQAIR, N. S. M. S. A. Q.; MACHADO NETTO, E. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T&C Amazônia**, [S.l.], v.5, n.11, p. 26-32, jun. 2007.

COSTA, L. C.; BELÉM L. F.; SILVA, P. M. F.; PEREIR, A. H. S.; SILVA JÚNIOR, E. D.; LEITE, T. R.; SILVA PEREIRA, G. J. Infecções urinárias em pacientes ambulatoriais: prevalência e perfil de resistência aos antimicrobianos. **RBAC**, [S.l.], v.42, n.3, p. 175-180, 2010.

COSTA, F. R. C.; ESPINELI, F. P.; FIGUEIREDO, F. O. G. **Guia de zingiberales dos sítios PPBio na Amazônia Ocidental brasileira**. v.1. Manaus: Áttema Design Editorial, 2011.

DAHLGREN, R. M. T.; CLIFFORD, H. T.; YEO, P. F. **The families of the monocotyledons**. Berlin: Springer-Verlag, 1985.

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

DUARTE, R. C.; CONTINI, S. H. T.; PEREIRA, P. S.; OLIVEIRA, C. F.; MIRANDA, C. E. S.; BERTONI, B. W.; COPPEDE, J. S.; WILLRICH, G. B.; CREVELIN, E. J.; FRANCA, S. C.; PEREIRA, A. M. S. Effect of *Costus spiralis* (Jacq.) Roscoe leaves, methanolic extract and guaja verino blood glucose and lipid levels in a type II diabetic rat model. **Chemistry & Biodiversity**, [S.l.], v.16, n.1, nov. 2019.

ELIZABETSKY, E. Pesquisas em plantas medicinais. **Ciênc. Cultura**, [S.l.], v. 39, n.8, p. 697-702, 1997.

FERREIRA, A. L. S.; BATISTA, C. A. S.; PASA, M. C. Uso de plantas medicinais na comunidade quilombola Mata Cavalo em Nossa Senhora do Livramento – MT, Brasil. **Biodiversidade**, [S.l.], v.14, n.1, p. 151-160, 2015.

FERREIRA, O. R. **Estudo fitoquímico e de toxicidade subcrônica e reprodutiva do extrato bruto das folhas de *Ipomoea setifera***. 2013. 97f. Tese (Doutorado em produção animal) - Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, 2013.

FIDALGO, O.; BONONI, V. L. **Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1984.

FOXMAN, B. A. Epidemiologia da infecção do trato urinário. **Nature Reviews Urology**, [S.l.], v.7, n.12, p. 653-660, 2010.

GRACE, F. C.; DOUGLAS, W. S. Ecological differentiation and local adaptation in two sister species of Neotropical *Costus* (Costaceae). **Ecology**, [S.l.], v.96, n.2, p. 440-449, 2015.

GRABE, M.; BARTOLETTI, R.; JOHANSEN, T. E.; CAI, T.; ÇEK, M.; KOVES, B.; NABER, K. G.; PICKARD, R. S.; TENKE, P.; WAGENLEHNER, F.; WULLT, B. Guidelines on urological infections. **European Association of Urology**, [S.l.], v.182, n.1, 2015.

HABSAH, M.; AMRAN, M.; MACKEEN, M. M.; LAJIS, N. H.; KIKUZAKI, H.; NAKATANI, N.; RAHMAN, A. A.; GHAFAR; ALI, A. M. Screening of Zingiberaceae extracts for antimicrobial and antioxidant activities. **Journal of Ethnopharmacology**, [S.l.], v.72, n.3, p. 403-410, out. 2000.

HASENCLEVER, L.; PARANHOS, J.; COSTA, C. R.; CUNHA, G.; VIEIRA, D. The Brazilian phytotherapies industry: challenges and opportunities. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v.22, n.8, p. 2559-2569, ago. 2017.

HEILBERG, I. P.; SCHOR, N. Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário – ITU. **Rev. Assoc. Med. Bras**, [S.l.], v.49, n.1, p. 109-116, 2003.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN JUNIOR, W. C. **Diagnóstico microbiológico**. 5. Ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001.

KOLMAN, K. B. Cystitis and Pyelonephritis. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, [S.l.], v.46, n.2, p. 191–202, 2019.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA, J. V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, [S.l.], v.25, n.3, p. 429-438, 2002.

MAAS, P. J. M. **Flora neotropical: Costoidae** (Zingiberaceae). Nova York: Harcover, 1972.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa: Editora UFV, 2003.

MASSON, P., MATHESON, S., WEBSTER, A. C., & CRAIG, J. C. Meta-analyses in Prevention and Treatment of Urinary Tract Infections. **Infectious Disease Clinics of North America**, [S.l.], 23(2), 355–385, 2009.

MEDEIROS, M. F. T.; FONSECA, V. S.; ANDREATA, R. H. P. Plantas medicinais e seus usos pelos sítiantes da Reserva do Rio das Pedras, Mangaratiba, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, [S.l.], v.18, n.2, p. 391-399, 2004.

MENEGUELLI, A. Z.; RIBEIRO, S. B.; JÚNIOR, G. A. L.; SPIROTTTO, E. O.; SOUZA, J. H. G. A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos na saúde pública brasileira. **Revista Enfermagem e Saúde Coletiva**, [S.l.], v.1, n.1, p. 2-12, 2017.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

NASCIMENTO, C. C. H. C.; VASCONCELOS, S. D. D.; CAMACHO, A. C. L. F.; NASCIMENTO, S. F.; OLIVEIRA, J. F. F.; NOGUEIRA, R. I.; BARRETO, A. S.; DIRÉ, G. F. A literature review on the medicinal properties and toxicological profile of *Costus spicatus* plant. **Res. Journ. Lif. Bioinf. Pharm. Chem. Scien.**, [S.l.], v.2, n.2, p. 56-68, ago. 2016.

NUÑEZ, L.; TORNELLO, C.; PUENTES, N.; ESPIGARES, E.; MORENO, E.; ESPIGARES, M.; MORETTON, J. Hospital effluent constitutes a source of vancomycin-resistant enterococci. **Ars Pharm**, [S.l.], v.57, n.3, p. 121-126, 2016.

PARADELLA, T. C.; KOGA-ITO, C. Y.; JORGE, A. O. C. *Enterococcus faecalis*: considerações clínicas e microbiológicas. **Rev. Odontol. UNESP**, São Paulo, v.36, n.2, p. 163-168, 2007.

PÉREZ, C.; FALERO, A.; HUNG, B. R.; LEDÓN, T.; FANDO, R. Antibacterial effect of *Costus spiralis* leaves extract on pathogenic strains of *Vibrio cholerae*. **Revista CENIC Ciencias Biológicas**, [S.l.], v.39, n.1, p. 70-72, 2008.

RESENDE, J. A.; FREITAS, R. B.; MENDONÇA, B. G.; ANTONIO, T.; FORTUNATO, R. S.; OLIVEIRA, M. A. C. A. Infecções do trato urinário de origem hospitalar e comunitária: revisão dos principais micro-organismos causadores e perfil de susceptibilidade. **Revista Científica Fagoc Saúde**, [S.l.], v.1, n.1, p. 55-62, 2016.

RORIZ-FILHO, J. S.; VILAR, F. C.; MOTA, L. M.; LEAL C. L.; PISI, P. C. B. Infecção do trato urinário. **Medicina (Ribeirão Preto. Online)**, v.43, n.2, p. 118-25, 2010.

SASS, C.; ILES, W. J.; BARRETT, C. F.; SMITH, S. Y.; SPECHT, C. D. Revisiting the Zingiberales: using multiplexed exon capture to resolve ancient and recent phylogenetic splits in a charismatic plant lineage. **PeerJ**, [S.l.], v.21, n.4, p. e1584, jan. 2016.

SAVA, I. G.; HEIKENS, E.; HUEBNER, J. Pathogenesis and immunity in enterococcal infections. **Clinical Microbiology and Infection**, [S.l.], v.16, n.6, p. 533-540, jun. 2010.

SHARIFI, Y.; HASANI, A.; GHOTASLOU, R.; NAGHILI, B.; AGHAZADEH, M.; MILANI, M.; BAZMANY, A. Virulence and antimicrobial resistance in enterococci isolated from urinary tract infections. **Advanced pharmaceutical bulletin**. [S.l.], v.3, n.1, p. 197–201, 2013.

SPECHT, C. D.; KRESS, W. J.; STEVENSON, D. W.; DE SALLE, R. A molecular phylogeny of Costaceae (Zingiberales). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, [S.l.], v.21, n.3, p. 333-345, dez. 2001.

SILVA, B. P.; PARENTE, J. P. New steroidal saponins from rhizomes of *Costus spiralis*. *Zeitschrift für Naturforschung, Section C: Journal of Biosciences*, [S.l.], v.59, n.1-2, p. 81-85, fev. 2004.

SILVA, N. C. C.; FERNANDES JÚNIOR, A. Biological properties of medical plants: a review of their antimicrobial activity. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, [S.l.], v.16, n.3, p. 402-413, 2010.

TEIXEIRA, L. M.; FACKLAM, R. R. Special phenotypic methods for detecting antibacterial Resistance, *In*: MURRAY, P. R. *et al.* (eds.) **Manual of Clinical Microbiology**. Washington: American Society for Microbiology, 2003.

TOLEDO, A. C. O.; HIRATA, L. L.; BUFFON, M. C. M.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Fitoterápicos: uma abordagem farmacocinética. **Revista Lecta**, [S.l.], v.21, n.1-2, p. 7-13, 2003.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8.ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005.

VIEL, T. A.; DOMINGOS, D. C.; SILVA, A. P. M.; LIMALANDMAN, M. T. R.; LAPA, A. J.; SOUCCAR, C. Evaluation of the antiurolithiatic activity of the extract of *Costus spiralis* (Jacq.) Roscoe in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, [S.l.], v.66, n.2, p. 193-198, ago. 1999.

VILA VERDE, G. M.; PAULA, J. R.; ARNEIRO, D. M. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do cerrado utilizadas pela população de Mossâmede, GO. **Rev. Bras. de Farmacogn.**, v.13, p. 64-66, 2003.

VOLPATO, A. M. M. **Avaliação do potencial antibacteriano de *Calendula officinalis* (Asteraceae) para seu emprego como fitoterápico**. 2005. 137f. Tese (Doutorado em Ciências, concentração em Química Orgânica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

WILLEMS, R. J. L.; BONTEN, M. J. M. Glycopeptide-resistant enterococci: deciphering virulence, resistance and epidemicity. **Curr. Opin. Infect. Dis.** [S.l.], v.20, n.1, p. 384-390, 2007.

ZANDONÁ, J.; SOUZA, M. A. Características microbiológicas, patogenicidade e viabilidade do *Enterococcus faecalis* e seu cultivo *in vitro* em pesquisas microbiológicas na área da Endodontia. **Rev. Fac. Odontologia UFPF**, Passo Fundo, v.22, n.2, p. 255-260, maio/ago. 2017.

ANEXO A – Ficha de Identificação Vegetal

A ficha de identificação vegetal que será anexada na exsicata produzida, contendo dados de coleta e de identificação da família e espécie. Modelo utilizado pelo Herbário da Universidade Federal do Tocantins *Campus* Porto Nacional – TO.

	UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS - UFT CAMPUS DE PORTO NACIONAL HERBÁRIO HTO
HTO	
Família: COSTECEAE Espécie: <i>Costus spiralis</i>. Determinador/data: Nome Popular: Cana-de-macaco, Caninha-do-brejo, Caatinga Habitat: Vegetação ripária Localidade: Brasil – Tocantins – Divinópolis do Tocantins - Fazenda Sítio Novo. Coordenadas - 9°54'32"S 49°09'27"W. Coletor: Albério Batista de Oliveira01 Data: 19/IV/2019 Observações: Planta de 143cm com flor vermelha, folhas verdes com marcas de herbivorismo, sem liberação de látex. Localizada às margens do brejo Suçuarana, tributário do Ribeirão Piedade.	

ANEXO B – Tabela de análise de sensibilidade POLISENSIDISC 15.

Tabela padrão utilizada para interpretação de halos de inibição



Av. Antonio Cavanana, 97 - B. Concórdia III
CEP 16013-385 - Araçatuba/SP
Telefax: (18) 3621-8670 / 3621-8836
comercial@dme.ind.br - www.dme.ind.br
CNPJ: 65.013.120/0001-79

Resp. Técnico: Antonio C. De Fendi - CRBM 1005
Registro MS 10401600019

POLISENSIDISC 15

APRESENTAÇÃO

Caixa contendo 25 unidades de Polisensidisc, cada unidade composta de 15 antimicrobianos específicos para cada série.

PRINCÍPIO

Sistema Polisensidisc composto de um módulo circular, contendo em seu anel externo 10 antimicrobianos e anel interno 05 antimicrobianos, totalizando 15 antimicrobianos para cada série.

POLISENSIDISC DME é para ser usado em placas de Petri de 150 mm de diâmetro por 20 mm de altura.

POLISENSIDISC DME GRAM POSITIVO

Antibacteriano	Potência/Código	Halos de inibição em mm		
		Resistente	Intermediário	Sensível
Ampicilina	AMP 10			
Para <i>Enterococcus</i> spp		≤ 16	-	≥ 17
Para <i>Streptococcus</i> spp (só Beta)		-	-	≥ 24
Para <i>Haemophilus</i> spp		≤ 18	19-21	≥ 22
Azitromicina	AZI 15			
Para <i>Staphylococcus</i> spp e <i>Streptococcus</i>		≤ 13	14-17	≥ 18
Para <i>Haemophilus</i> spp		-	-	≥ 12
Ciprofloxacina	CIP 05			
Para <i>Staphylococcus</i> spp		≤ 15	16-20	≥ 21
Para <i>Haemophilus</i> spp		-	-	≥ 21
Clindamicina*	CLI 02			
Para <i>Staphylococcus</i> spp		≤ 14	15-20	≥ 21
Para <i>Streptococcus</i>		≤ 15	18-18	≥ 19
Cloranfenicol	CLO 30			
Para <i>Staphylococcus</i> spp e <i>Enterococcus</i> spp		≤ 12	13-17	≥ 18
Para <i>Streptococcus pneumoniae</i>		≤ 20	-	≥ 21
Para <i>Streptococcus</i> spp		≤ 17	18-20	≥ 21
Para <i>Haemophilus</i> spp		≤ 25	26-28	≥ 29
Eritromicina	ERI 15			
Para <i>Staphylococcus</i> spp e <i>Enterococcus</i> spp		≤ 13	14-22	≥ 23
Para <i>Streptococcus</i> spp		≤ 15	16-20	≥ 21
Gentamicina	GEN 10			
Para <i>Staphylococcus</i> spp		≤ 12	13-14	≥ 15
Oxacilina para <i>Staphylococcus aureus</i> **	OXA 01	-	-	-
Oxacilina para <i>Staphylococcus coag. Neg.</i> **		-	-	-
Cefoxitina para <i>Staphylococcus aureus</i>	CFO 30	≤ 21	-	≥ 22
Cefoxitina para <i>Staphylococcus coag. Neg.</i>		≤ 24	-	≥ 25
Linezolida	LNZ 30			
Para <i>Staphylococcus</i> spp		≤ 20	-	≥ 21
Para <i>Enterococcus</i> spp		≤ 20	21-22	≥ 23
Para <i>Streptococcus</i>		-	-	≥ 21
Penicilina G	PEN 10			
Para <i>Staphylococcus</i> spp		≤ 28	-	≥ 29
Para <i>Streptococcus pneumoniae</i> (1ug Oxacilina)		-	-	≥ 20
Para <i>Streptococcus</i> β Hemolítico		-	-	≥ 24
Para <i>Enterococcus</i> spp		≤ 14	-	≥ 15
Rifampicina para <i>Staphylococcus</i> spp e <i>Enterococcus</i> spp	RIF 05	≤ 16	17-19	≥ 20
Rifampicina para <i>Streptococcus pneumoniae</i>		≤ 16	17-18	≥ 19
Sulfazotrim para <i>Staphylococcus</i> spp e <i>Haemophilus</i> spp	SUT 25	≤ 10	11-15	≥ 16
Tetraciclina	TET 30			
Para <i>Staphylococcus</i> spp e <i>Enterococcus</i> spp		≤ 14	15-18	≥ 19
Para <i>Streptococcus pneumoniae</i>		≤ 24	25-27	≥ 28
Para <i>Streptococcus</i> spp		≤ 18	19-22	≥ 23
Para <i>Haemophilus</i> spp		≤ 25	26-28	≥ 29
Vancomicina	VAN 30			
Para <i>Enterococcus</i> spp		≤ 14	15-16	≥ 17
Para <i>Staphylococcus</i> spp**		-	-	-
Para <i>Streptococcus</i>		-	-	≥ 17

* O disco de Clindamicina está localizado fora do sítio, para melhor visualização do D-teste.

** Não há parâmetros para disco difusão, determinar por MIC conforme CLSI.

CONSERVAÇÃO

Manter ao abrigo da luz, conservar de -15°C a -20°C.

Obs.: Os módulos deverão ser abertos no momento do uso.

TRANSPORTE

A estabilidade do Polisensidisc permanece inalterada por até 10 dias, em temperatura de até 30°C.

Lote e Validade: Vide caixa.

Referências Bibliográficas

* Referências CLSI 2017.

Ativar o W
Acesse as cor
ativar o Wind