



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE FARMÁCIA

MAÍSA SOARES DE OLIVEIRA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E EFEITO INTERATIVO *IN VITRO* DE
PRODUTOS DE CRANBERRY (*Vaccinium macrocarpon*) E QUINOLONAS**

CAMPINA GRANDE – PB

2015

MAÍSA SOARES DE OLIVEIRA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E EFEITO INTERATIVO *IN VITRO* DE
PRODUTOS DE CRANBERRY (*Vaccinium macrocarpon*) E QUINOLONAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado em
forma de monografia a Coordenação de Farmácia da
Universidade Estadual da Paraíba como requisito
para a obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^a Dr^a Raïssa Mayer Ramalho Catão

CAMPINA GRANDE – PB

2015

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

O48a Oliveira, Maísa Soares de.
Atividade antimicrobiana e efeito interativo in vitro de produtos de Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) e Quinolonas [manuscrito] / Maísa Soares de Oliveira. - 2015.
45 p. : il. color.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2015.
"Orientação: Profa. Dra. Raíssa Mayer Ramalho Catão, Departamento de Farmácia".

1. Atividade antimicrobiana. 2. Fitoterápicos. 3. Efeito interativo. 4. Cranberry. I. Título.

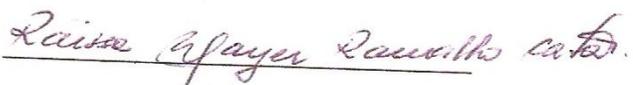
21. ed. CDD 615.321

MAÍSA SOARES DE OLIVEIRA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E EFEITO INTERATIVO *IN VITRO* DE
PRODUTOS DE CRANBERRY (*Vaccinium macrocarpon*) E QUINOLONAS**

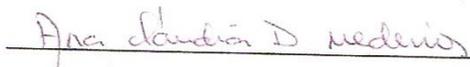
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado em
forma de monografia a Coordenação de Farmácia da
Universidade Estadual da Paraíba como requisito
para a obtenção do título de bacharel no curso de
Farmácia.

Aprovada em 05/10/2015.



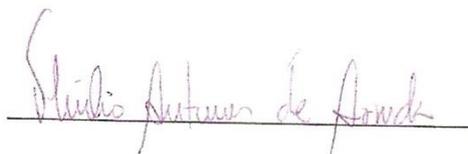
Profª Drª Raíssa Mayer Ramalho Catão / CCBS/UEPB

Orientadora



Profª Drª Ana Cláudia Dantas de Medeiros / CCBS/UEPB

Examinadora



Profª Dr Thulio Antunes de Arruda / CCBS/UEPB

Examinador

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, marido e família. Por serem os companheiros da minha vida, por toda dedicação, ensino, amor, cobrança e críticas. Tudo isso me fez chegar aqui. À vocês dedico.

AGRADECIMENTOS

Á Deus e minha mãe Santíssima, por todas as graças a mim concedidas e por todo apoio nos momentos de dificuldades onde minha fé foi crucial para enfrentá-las.

Aos meus pais, Vladimir e Fernanda, que fizeram tudo da maneira mais bela para que esse dia se tornasse possível, não só me dando o melhor ensino, mas sim a melhor educação. Meus maiores incentivadores, que sempre se fizeram presentes em todos os momentos da minha vida.

Ao meu marido, Renan, meu companheiro há tantos anos, por todo seu amor, compreensão e incentivo, me ajudando quando tudo parecia ser tão difícil e tornando tudo mais fácil.

Aos meus irmãos, pelo simples fato (ou não tão simples assim) de serem meus irmãos.

As minhas avós por serem e os meus avôs por terem sido tão presentes em minha vida, me dando a satisfação de conviver com eles e ganhar conhecimentos que não ganharia com qualquer outra pessoa.

A minha orientadora, Dra. Raïssa Mayer Ramalho Catão, por todo conhecimento que me foi passado, todo apoio, generosidade e paciência nesses dois anos de pesquisa.

Aos meus colegas e amigos de universidade, Fernanda, Widson, Alinne, Dani, Thaís, Márcia e Yargo. Meus companheiros de estudo durante esses cinco anos, por todos os momentos compartilhados, por todas as noites em claro estudando, e principalmente, por todo companheirismo e amizade.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

“Acho que fiz tudo do melhor jeito, meio torto, talvez,
mas tenho tentado da maneira mais bonita que sei”.

Caio Fernando Abreu

RESUMO

OLIVEIRA, M. S. Atividade antimicrobiana e efeito interativo *in vitro* de produtos de cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) e quinolonas

Vaccinium macrocarpon, planta originária do hemisfério norte e popularmente conhecida como cranberry apresenta na sua composição, vários fitoconstituintes, dentre eles antocianidinas e proantocianidinas responsáveis por diversas atividades biológicas, destacando-se a atividade antioxidante contra células microbianas. Assim, o objetivo deste estudo foi determinar *in vitro* a atividade antimicrobiana e a interação de produtos comercializados (suco concentrado e extrato seco) de cranberry e quinolonas, sobre cepas de *Escherichia coli*. Foram testadas 4 cepas de *Escherichia coli*, sendo uma cepa padrão *American Type Culture Collection* – ATCC 25922 e 3 cepas multirresistentes, cedidas por um laboratório da rede privada de Campina Grande – PB, e com perfil de resistência antimicrobiana pré determinado através do antibiograma. Para a avaliação da atividade antimicrobiana, discos estéreis foram embebidos com 20 µL da solução de cada produto teste. Foram utilizados dois extratos secos (ES1 e ES2) e um suco concentrado (SC), obtidos no comércio local. A partir dos ES solubilizados em álcool etílico a 40% foram preparadas soluções de 800 mg/mL, enquanto o SC foi testado sem diluição. Os testes de interação foram realizados com as quinolonas, ácido nalidixico, ciprofloxacino, levofloxacino e norfloxacino. Observou-se que o ES2 e o SC mostraram-se ativos, apresentando respectivamente, halos de inibição de crescimento com diâmetros de 12 e 15 mm, para *E. coli* ATCC 25922, enquanto para as cepas multirresistentes, apenas o ES2 se mostrou ativo para duas delas. Foram realizadas diluições sucessivas e seriadas dos produtos ativos, determinando suas CIMs 12,5% (SC) e 800 mg/mL (ES2). Através da adição das soluções de ES e SC sobre os discos de antimicrobianos pode-se observar o efeito interativo comparando-se o diâmetro dos halos de inibição das quinolonas isoladas e após associação com os produtos de cranberry em diferentes concentrações pré definidas. Os resultados *in vitro* mostraram que o uso associado de produtos de cranberry com quinolonas interfere sobre diâmetro dos halos de inibição de crescimento bacteriano entre os antimicrobianos testados. Entretanto, não foram capazes de modificar o efeito das quinolonas sobre o perfil de resistência das cepas. Porém, estes resultados *in vitro*, permitem supor que *in vivo* estes produtos possam ser capazes de interagir modificando o efeito destes fármacos. Os testes foram realizados em duplicata e os resultados reportados são a média aritmética dos dois ensaios.

PALAVRAS-CHAVE: Cranberry. Atividade Antimicrobiana. Fitoterápicos. Efeito interativo.

ABSTRACT

OLIVEIRA, M. S. Antimicrobial activity and interactive effect *in vitro* of cranberry products (*Vaccinium macrocarpon*) and quinolones

Vaccinium macrocarpon, a native plant from the northern hemisphere and popularly known as cranberry has shown in its constitution a number of phytochemicals, including anthocyanins and proanthocyanidins responsible for many biological activities, especially the antioxidant activity against microbial cells. This study's goal was to evaluate the antimicrobial activity *in vitro* and the interactive effect between commercialized cranberry and quinolone products (concentrated juice and dry extract) on *Escherichia coli* strains. Four strains of *Escherichia coli* were tested: one standard strain being the American Type Culture Collection - ATCC 25922 and 3 multidrug-resistant strains, which belonged to the collection of a private network laboratory located in Campina Grande - PB, and with the antimicrobial resistance profile determined by an antibiogram. For the evaluation of the antimicrobial activity, sterile discs were soaked with 20 μ L of the solution derived from each test product. Two dry extracts (ES1 and ES2) and a concentrated juice (SC) obtained in a local pharmacy were used. From the ES solubilized in ethyl alcohol 40%, 800 mg/mL solutions were prepared, while the SC was tested without being diluted. Interaction tests were performed only with quinolones, nalidixic acid, ciprofloxacin, levofloxacin and norfloxacin. It was observed that the ES2 and SC were shown to be active, presenting growth inhibition halos of 12 and 15 mm diameters (respectively), for *E. coli* ATCC 25922; for the multidrug-resistant strains, only the ES2 has presented itself resistant to two of them. Successive dilutions of the active products were performed to determine the MICs 12.5% (juice) and 800 mg / ml (ES2). Through the addition of SE and SC solutions over antimicrobial discs we were able to observe the interactive effect by comparing the diameter of inhibition halos in the isolated antimicrobials and after the association with cranberry products in pre-defined concentrations. The *in vitro* results showed that the combined use of cranberry products with antimicrobial agents is able to interfere in the diameter of the microbial growth inhibition halos of the tested antimicrobials. It was observed that the tested cranberry products were not able to modify the effect of quinolones on the resistance profile of the strains. However, the *in vitro* results suggest that these products *in vivo* may be able to interact, thus modifying the effect of these drugs. Tests were performed in duplicate and the results reported are the average of two tests.

KEYWORDS: Cranberry. Antimicrobial activity. Phytotherapics. Interactive effect.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Avaliação da atividade antimicrobiana de produtos à base de cranberry frente à cepas de *Escherichia coli*. 31
- Tabela 2** - Determinação da CIM dos produtos de cranberry frente à cepa de *E. coli* ATCC 25922 32
- Tabela 3** - Avaliação do efeito interativo *in vitro* entre diferentes concentrações da solução hidroalcoólica do extrato seco de cranberry (ES2) e quinolonas frente à *E. coli* ATCC 25922. 32
- Tabela 4** - Avaliação do efeito interativo *in vitro* entre diferentes concentrações do suco concentrado de cranberry e quinolonas frente à *E. coli* ATCC 25922. 33
- Tabela 5** - Avaliação do efeito interativo *in vitro* entre a solução hidroalcoólica do extrato seco de cranberry e quinolonas frente às cepas de *E.coli* multirresistentes. 33
- Tabela 6** - Avaliação do efeito interativo *in vitro* entre o suco concentrado de cranberry e quinolonas frente às cepas de *E. coli* multirresistentes. 34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura molecular do Ácido Nalidíxo.....	20
Figura 2: Estrutura molecular da Ciprofloxacino.....	21
Figura 3: Estrutura molecular da Levofloxacino.....	22
Figura 4: Estrutura molecular da Norfloxacino.....	22
Figura 5: Fruto do <i>Vaccinium macrocarponn</i> (Cranberry)	25

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1:** Composição dos produtos de Cranberry testados.....27
- Quadro 2-** Perfil de resistência das cepas de *Escherichia coli* aos antimicrobianos.....28

LISTA DE SIGLAS

μ TE	Micromol Trolox equivalent
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Brain Heart Infusion
CIP	Ciprofloxacino
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ITU	Infecção do Trato Urinário
LEV	Levofloxacino
NaCl	Cloreto de Sódio
NAL	Ácido Nalidíxo
NOR	Norfloxacino
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAC	Proantocianidinas
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UPEC	<i>Escherichia coli</i> uropatogênica
UTI	Unidade de Terapia Intensiva

Sumário

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVO	16
2.1 Objetivo Geral	16
2.2 Objetivos Específicos	16
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1 Infecção do Trato Urinário (ITU)	17
3.2 Resistência Microbiana	18
3.3 Quinolonas e Fluoroquinolonas	19
3.3.1 Ácido Nalidixo	20
3.3.2 Ciprofloxacino	20
3.3.3 Levofloxacino	21
3.3.4 Norfloxacino	22
3.4 Fitoterapia	22
3.5 <i>Escherichia coli</i>	24
3.6 Cranberry	25
4. METODOLOGIA	27
4.1 Material	27
4.1.1 Suco concentrado de cranberry	27
4.1.2 Extrato seco de cranberry	27
4.2 Cepas microbianas	27
4.3 Confirmação do perfil de resistência aos antimicrobianos – Antibiograma	28
4.4 Meios de cultura	28
4.5 Preparo da suspensão microbiana (inóculo)	28
4.6 Ensaio de atividade antimicrobiana	29
4.7 Determinação da Concentração Inibitória Mínima - CIM	29
4.8 Avaliação do efeito interativo	29
5. RESULTADOS	31
6. DISCUSSÃO	35
7. CONCLUSÕES	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

1. INTRODUÇÃO

As plantas medicinais foram utilizadas no início da produção de medicamentos e no tratamento farmacológico de diversas patologias que acometiam a população, porém, foi com a evolução da ciência e de diversos métodos experimentais que as atividades terapêuticas das plantas começaram a ser estudadas. As plantas foram estudadas sob o aspecto dos seus constituintes químicos, a fim de isolar princípios ativos que poderiam ser usados no organismo animal e assim pesquisar os efeitos que essas substâncias exerciam (FREITAS et al., 2014).

Desta forma, a fitoterapia vem sendo a medicina integrativa que mais cresce ao longo dos anos, pelo fato da evolução dos estudos científicos comprovarem a eficácia de plantas medicinais, principalmente, as utilizadas pela população com finalidade terapêutica, através dos estudos químicos e farmacológicos. Um dos fatores que mais contribuiu para a pesquisa do potencial bioativo de plantas é a problemática da resistência a antibióticos convencionais adquiridas por diversos microrganismos (SANTOS et al., 2011; FREITAS et al., 2014).

Esta resistência provém do uso inadequado desses medicamentos por parte da população. A resistência de bactérias e fungos a antibióticos convencionais constitui um problema de saúde pública e requer não somente a pesquisa para o desenvolvimento de novas substâncias antimicrobianas, mas também o desenvolvimento de novas abordagens para o tratamento de infecções bacterianas. Logo, a busca de propriedades antibacterianas de extratos de plantas e de substâncias mais específicas tem sido incentivada e intensificada (FREITAS et al., 2014; LIMA et al., 2014).

Vaccinium macrocarpon é um pequeno arbusto nativo dos Estados Unidos e do Canadá, com meio metro de altura, popularmente conhecido como arando vermelho americano, mirtilo-vermelho e designado em inglês de Cranberry. O seu fruto, parte da planta utilizada com fins terapêuticos em Fitoterapia, possui um sabor ácido e tem de 1 a 2 cm de diâmetro e pesa cerca de 1 a 2 gramas (TEIXEIRA, A, 2012).

O cranberry possui cerca de 80% de água e 10% de carboidratos, além de outros constituintes como taninos, flavonoides, antocianinas, catequinas, triterpenóides, ácidos orgânicos e vitaminas A e C. Os Americanos foram os primeiros a utilizarem esta fruta

com fins medicinais e a utilizavam para diversas patologias incluindo desordens sanguíneas, doenças no estômago, problemas de fígado, febre, além da diminuição do número de infecções urinárias, propriedade esta que tornou o cranberry conhecido mundialmente (RAZ; CHAZAN; DAN, 2004).

A infecção do trato urinário (ITU) é uma patologia frequente que requer cada vez mais atenção. Esta é caracterizada pela presença de micro-organismos em alguma parte do trato urinário e é considerada a infecção hospitalar mais frequente, representando 32% das infecções nosocomiais. Estes dados epidemiológicos deixam claro a importância da ITU, bem como o custo envolvido no diagnóstico e tratamento dessas infecções (LOPES et al., 2012; PALMA, 2013). A maioria das ITUs são causadas por espécies bacterianas da família Enterobacteriaceae, principalmente a *Escherichia coli*, sendo este, um micro-organismo recorrente em infecções comunitárias (BORGES et al., 2014).

O tratamento e profilaxia utilizando antimicrobianos dessa e de outras infecções causadas por bactérias se tornou um problema que cresce significativamente, causando incertezas, falhas na terapêutica e consequências negativas para os pacientes, principalmente quando se trata de bactérias resistentes a múltiplos antibióticos. Portanto, a busca por novos compostos com atividade antimicrobiana que possam ser utilizadas como alternativa eficaz para combater esses micro-organismos é de extrema necessidade.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

- Determinar *in vitro* a atividade antimicrobiana e a interação de produtos comercializados (suco concentrado e extrato seco) de cranberry e quinolonas, sobre cepas de *Escherichia coli*.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a atividade antimicrobiana de produtos comercializados a base de cranberry frente à *Escherichia coli* ATCC 25922 e cepas multirresistentes.
- Determinar as Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) dos produtos ativos sobre as cepas.
- Avaliar a interação de produtos à base de cranberry e quinolonas sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 e isoladas de urocultura.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Infecção do Trato Urinário (ITU)

A infecção urinária pode atingir todas as pessoas, independentemente da idade e do sexo, porém, durante o período neonatal acomete preferencialmente crianças do sexo masculino devido ao maior número de más formações congênicas. A partir deste período, as meninas passam a ser mais acometidas por ITU, apresentando em torno de 10 a 20 vezes mais infecções que os meninos. Na vida adulta, o sexo feminino continua sendo mais susceptível, sendo afetadas cerca de 30% das mulheres com idade entre 20 e 40 anos, uma prevalência 30 vezes maior do que em homens (HEILBERG; SCHOR, 2003; OLIVEIRA, 2011).

Essa maior prevalência pode ser explicada por conta das diferenças anatômicas, devido ao fato das mulheres possuírem sítios que são mais susceptíveis as ITUs, como ter a uretra mais curta e a bexiga maior, podendo desta forma armazenar a urina por mais tempo. A proximidade entre a vagina e o ânus, associada ao alto grau de umidade local, favorece o acesso dos micro-organismos ao sistema urinário feminino, além da ausência de fluidos prostáticos que estão presentes na urina dos homens, e conferem maior atividade antibacteriana. Desta forma cerca 48% das mulheres apresentarão pelo menos um episódio de ITU ao longo da vida (HEILBERG; SCHOR, 2003; OLIVEIRA, 2011; LOPES et al., 2012).

Condições que favoreçam o desenvolvimento bacteriano no trato urinário facilitam a instalação de uma infecção urinária, podendo esta ser contraída por diferentes vias, mas tendo como principal acesso a via ascendente através da uretra. A micção e a urina são consideradas os principais mecanismos de defesa das vias urinárias. A micção por ajudar na remoção dos micro-organismos que ascenderem pela uretra, e a urina por possuir uma constituição que atua como defesa desses micro-organismos, caracterizada por sua elevada osmolaridade e baixo pH que inibem assim o desenvolvimento destes (OLIVEIRA, 2010).

A ITU pode ser classificada como não complicada ou complicada. Essa diferente classificação esta relacionada ao ambiente onde a infecção foi adquirida e a condição clínica do paciente. Em pessoas com estrutura e função do trato urinário normais, que adquiriram a infecção fora do ambiente hospitalar essa ITU é considerada não

complicada. Porém as que foram adquiridas por causas obstrutivas, anátomofuncionais, metabólicas, uso de cateter de demora ou outro tipo de instrumento, são incluídas como complicadas (HEILBERG; SCHOR, 2003).

A ITU está entre as mais frequentemente encontradas infecções bacterianas na prática clínica. Além disso, é uma importante causa de admissão hospitalar, sendo responsável por significativa morbidade e mortalidade e, conseqüentemente, um alto custo financeiro (NISHIURA; HEILBERG, 2009). Segundo Heilberg e Schor (2003), grande número de consultas clínicas no Brasil está relacionado a ITU. O principal agente etiológico dessas infecções é a *E. coli* que é responsável por mais de 85% das ITU comunitárias e 50% das hospitalares, sendo que outras bactérias são frequentemente isoladas, como *Klebsiella* spp., outras Enterobacteriaceae e *Staphylococcus saprophyticus* (CORREIA et al., 2007).

3.2 Resistência Microbiana

De acordo com Terrível (2013), dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) apontam para a proliferação descontrolada das resistências microbianas aos antibióticos convencionais, que perdem gradualmente eficácia clínica, complicando o tratamento de futuros doentes e exigindo a utilização de antibióticos de amplo espectro na terapêutica de infecções mais simples. O desenvolvimento de resistência bacteriana aos antibióticos é um fenômeno natural que surge como resultado da pressão seletiva exercida pelo uso de antibióticos. No entanto, este fenômeno tem sofrido uma expansão muito acelerada devido à utilização inadequada de antibióticos, sendo que, existe uma correlação clara entre um maior consumo de antibióticos e níveis mais elevados de resistência microbiana (LOUREIRO, 2012).

A prevalência de resistência bacteriana a múltiplos antibióticos nas infecções comunitárias vem crescendo, e esse crescente aumento representa um grande desafio no tratamento dessas infecções (SANTANA et al., 2012). A resistência antimicrobiana é considerada um grave problema de saúde pública no mundo, visto que ameaça a eficácia terapêutica empregada para as doenças infecciosas de etiologia bacteriana. O uso indiscriminado e irracional de medicamentos, problemas quanto ao diagnóstico correto das infecções e ausência de um sistema global de vigilância epidemiológica, são alguns dos problemas que contribuem para aquisição da resistência, que possui como consequência direta a presença de infecções cada vez mais agressivas e de difícil

controle tanto na comunidade quanto no ambiente hospitalar (ARANTES; ANDRADE; BARACHO, 2013).

O crescente número de cepas bacterianas cada vez mais resistentes à quimioterapia disponível aumenta o tempo de internação, exige medicamentos caros de difícil acesso e aumenta a morbidade e mortalidade na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e nos serviços de saúde em geral. As infecções hospitalares são consideradas os riscos mais antigos e temidos. Pacientes hospitalizados estão predispostos a uma variedade de infecções nosocomiais, especialmente causadas por esses microorganismos multirresistentes. Tal problemática, amplamente discutida na literatura científica, promove o aumento da permanência nosocomial e contribui efetivamente na elevação dos custos nas organizações hospitalares. No Brasil entre 5 e 15% dos pacientes hospitalizados e 25 a 35% dos pacientes admitidos em UTI's adquirem infecção hospitalar, sendo ela a quarta causa de mortalidade (COIMBRA; FILHO; LIMA, 2012; REIS et al., 2013).

A resistência microbiana é um problema crescente e a perspectiva futura do uso de drogas antimicrobianas, incerta. Desta forma, há uma necessidade urgente de adotar medidas para enfrentar esse problema, entre elas um controle mais rígido no uso de antibióticos, o desenvolvimento de pesquisas para uma melhor compreensão dos mecanismos genéticos da resistência microbiana e uma série de estudos como a Etnofarmacologia que tem se mostrado uma fonte de novos medicamentos a fim de buscar o desenvolvimento de novas drogas sintéticas e naturais (LOGUERCIO et al., 2005; ARANTES; ANDRADE; BARACHO, 2013).

3.3 Quinolonas e Fluoroquinolonas

As quinolonas e fluoroquinolonas são fármacos bactericidas muito utilizados no tratamento de infecções do trato urinário, assim como em infecções causadas por microorganismos resistentes a outros agentes antibacterianos disponíveis (TEIXEIRA, M, 2012).

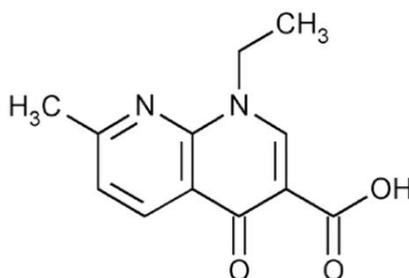
A atividade antibacteriana desses fármacos está relacionada à inibição de duas enzimas responsáveis e essenciais à replicação e transcrição do DNA bacteriano: a DNA girase, também conhecida como topoisomerase I e a topoisomerase IV, presentes respectivamente em bactérias Gram positivas e Gram negativas. Estas enzimas são responsáveis por produzirem um superovelo negativo no DNA, permitindo a transcrição do DNA bacteriano (RANG et al., 2007; PRIMANI, 2014).

As quinolonas incluem um fármaco de pequeno espectro usado nas infecções do trato urinário o Ácido nalidíxo (a primeira quinolona não fluorada), mas também agentes de largo espectro denominados fluoroquinolonas, como o ciprofloxacino, levofloxacino e norfloxacino (RANG et al., 2007).

3.3.1 Ácido Nalidíxico

A primeira quinolona foi sintetizada de forma acidental em 1962 a partir da cloroquina, um produto secundário da síntese de um agente antimalárico. Viu-se que este produto secundário possuía atividade antimicrobiana surgindo assim o Ácido Nalidíxico. Essa é uma droga sintética derivada da 1,8-naftidrina e age contra muitas bactérias gram-negativas. Foi introduzido na clínica médica em 1964, especialmente para o tratamento de infecções provocadas por bactérias gram-negativas do trato urinário. Estudos sistemáticos de modificação em sua molécula produziram compostos que aumentaram a potência e o espectro de ação, ampliando as aplicações terapêuticas das quinolonas (RODRIGUES-SILVA et al., 2014.; REIS, 2014).

Figura 1: Estrutura molecular do Ácido Nalidíxo



Fonte: <http://www.pharmacopeia.cn> (2015)

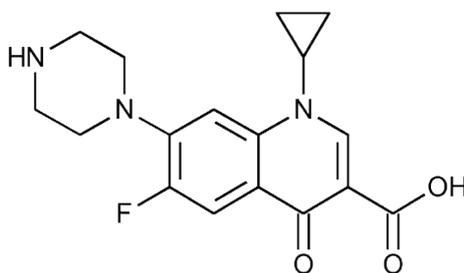
3.3.2 Ciprofloxacino

O ciprofloxacino ou ácido 1-ciclopropil-6-fluor-1,4- dihidro-7-(piperazinil)-4-oxoquinolona-3-carboxílico é um fármaco classificado quimicamente como uma fluorquinolona (Figura 1). Sintetizada em 1983 pela Bayer, mostrou-se ser de 4 a 8 vezes mais ativa que demais antibióticos, principalmente contra enterobactérias e *Pseudomonas* spp., sendo considerada entre as fluorquinolonas uma das mais potentes

atualmente disponível contra bactérias gram-negativas (DA SILVA, 2013; PRIMANI, 2014).

É considerado um antibiótico de amplo espectro de ação, agindo rapidamente tanto contra patógenos gram-positivos como para os gram-negativos. O ciprofloxacino é atualmente um dos fármacos mais prescritos no mundo, por ser recomendado como fármaco de primeira linha no tratamento da tuberculose e, além disso, no tratamento de doenças sexualmente transmissíveis e nas infecções do trato urinário (DA SILVA, 2013).

Figura 2: Estrutura molecular do Ciprofloxacino

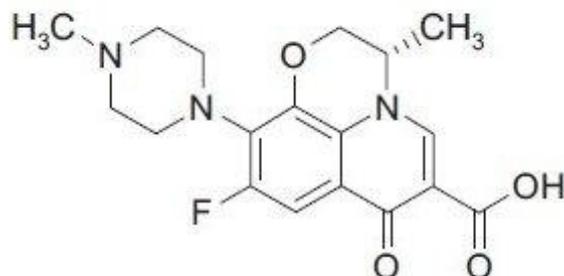


Fonte: <http://www.pharmacopeia.cn> (2015)

3.3.3 Levofloxacin

O Levofloxacin ou ácido (S)-9-fluoro-2,3-dihidro-3-metil-10-(4-metil-1-piperazinil)-7-oxo-7H-pirido[1,2,3-de]1,4-benzoxazina-6-carboxílico, pertence à 3ª geração de fluorquinolona e quando comparada com seu predecessor mostra um tempo de meia-vida mais longo, o que permite uma administração única durante o dia, e uma potência maior, por ser cerca de duas vezes mais potente contra as bactérias gram-negativas e gram-positivas (QUINTERO et al., 2012; PRIMANI, 2014).

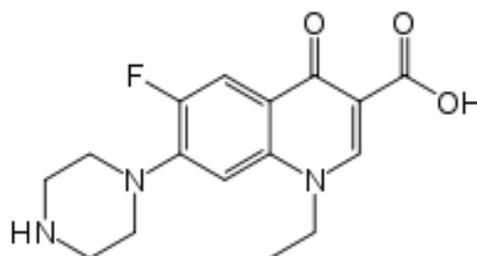
Ele tem mostrado ser ativo *in vitro* e clinicamente eficaz em certo número de infecções causadas por muitos micro-organismos entre eles a *E. coli*, apesar de que ao ser comparado com outras fluoroquinolonas como o ciprofloxacino, o levofloxacin apresenta grande atividade contra bactérias gram-positivas, mas pouca atividade contra bactérias gram-negativas (QUINTERO et al., 2012; PRIMANI, 2014).

Figura 3: Estrutura molecular do Levofloxacin

Fonte: <http://www.infoescola.com> (2015)

3.3.4 Norfloxacin

O norfloxacin é um antibiótico sintético pertencente ao grupo das fluorquinolonas de 2ª geração (ácido metil-7-(1-piperazinil)-6-fluoro-1,4-diidro-4-oxo-3-quinoleína carboxílico). É uma droga de amplo espectro utilizada no tratamento de infecções bacterianas do trato urinário, respiratório e da pele. O átomo de flúor na posição 6, proporciona um incremento potencial contra organismos gram-negativos (DA SILVA, 2013; REIS, 2014).

Figura 4: Estrutura molecular do Norfloxacin

Fonte: <http://www.pharmacopeia.cn> (2015)

3.4 Fitoterapia

Segundo Santos et al. (2011), a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) considera como medicamento fitoterápico aquele obtido exclusivamente de matérias-primas de origem vegetal, com qualidade constante e reprodutível e que tantos

os riscos quanto à eficácia seja caracterizada por levantamentos etnofarmacológicos, documentações técnico científicas em publicações ou ensaios clínicos.

Desde a antiguidade o uso terapêutico de plantas medicinais vem sendo registrado por civilizações como China, Índia, Egito e Grécia, entretanto existem evidências arqueológicas e históricas que há cerca de 10.000 anos atrás as propriedades curativas das plantas medicinais já eram conhecidas, portanto, durante muitos séculos, preparações à base de plantas constituíram os principais tratamentos contra as inúmeras doenças que acometiam a humanidade. Devido ao grande número de doenças e a dificuldade de acesso aos medicamentos nos países em desenvolvimento, o uso popular da fitoterapia ainda é amplamente praticada, sendo utilizada como guia para pesquisas farmacológicas, e com o avanço científico, muitos produtos naturais foram identificados e isolados, possibilitando tratamentos mais eficazes. O Reino Vegetal fornece aproximadamente 25% dos fármacos de origem natural utilizados atualmente, e por isso ainda é considerado como uma fonte rica em compostos ativos devido a sua vasta diversidade química (ANDRADE, 2013; LIMA et al., 2014).

As profundas raízes culturais da população brasileira facilitaram a sobrevivência da Fitoterapia até os dias atuais, uma vez que a consciência popular reconhece a eficácia e legitimidade desta modalidade terapêutica, visto que existem inúmeras vantagens para seu uso terapêutico, como o baixo custo e a grande disponibilidade para a população de baixa renda (SOARES et al., 2008; SANTOS et al., 2011).

Desta forma, as plantas são consideradas importantes aliadas na prevenção e combate as doenças da população em geral o que possibilitou que as pessoas adquirissem um amplo conhecimento sobre plantas medicinais, e esse conhecimento é utilizado como incentivo para pesquisas experimentais com a finalidade de identificar o possível potencial bioativo destas plantas, para que as mesmas possam ser empregadas como princípio ativo pela indústria farmacêutica (FREITAS et al., 2014).

As plantas medicinais tem sido frequentemente alvo nas investigações científicas, alguns dos fatores que contribuem para isso são o grande número de espécies vegetais existentes e a comprovada atividade inibitória de fungos e bactérias. Essa ação inibitória é conferida pela atividade metabólica secundária dos vegetais, que os tornam capazes de produzirem substâncias antibióticas que são utilizadas por essas plantas como mecanismo de proteção contra seus predadores (SOUZA et al., 2014).

As bactérias resistentes a múltiplos antimicrobianos representam um desafio no tratamento de infecções, e por conta disso é notória a necessidade de encontrar novas

substâncias com propriedades antimicrobianas para serem utilizadas no combate a esses micro-organismos (PEREIRA et al., 2004). Por esses motivos, descobrir novas moléculas com atividade antibacteriana quer sejam de origem sintética quer seja de origem natural, tem sido prioridade de muitos estudiosos, e como as plantas possuem uma grande diversidade de moléculas, elas são consideradas fontes promissoras de novos agentes antimicrobianos (ANDRADE, 2013).

3.5 *Escherichia coli*

As bactérias do gênero *Escherichia coli* pertencem à família Enterobacteriaceae e são micro-organismos anaeróbios facultativos e gram-negativos em forma de bastonete. Reduzem nitrato a nitrito, fermentam glicose, são oxidase-negativa e utilizam glicose, amônia e nitrogênio como fontes de carbono. Uma ampla variedade de substâncias são metabolizadas por essas bactérias entre elas carboidratos, lipídios, proteínas, aminoácidos e ácidos orgânicos. A *E. coli* possui como principal habitat o trato intestinal dos humanos e de outros animais de sangue quente (SILVA, 2011; ANDRADE, 2013).

Apesar da maioria de estirpes de *E. coli* não serem patogênicas, muitas delas adquiriram características que as tornam capazes de causar um grande número de doenças em humanos e animais. As cepas patogênicas de *E. coli* são responsáveis por causar, além das infecções urinárias, outras infecções clínicas como doenças entéricas e diarreicas, sepse e meningite (OLIVEIRA, 2011).

Muitos micro-organismos são capazes de causar ITU, porém, a *E. coli* é a responsável pela maioria dessas infecções, sendo isolada em cerca de 85% daquelas adquiridas na comunidade. As cepas uropatogênicas de *E. coli* (UPEC) são selecionadas da microbiota fecal pela presença de fatores de virulência, que aumentam a colonização das células vaginais e periuretais, a fixação ao uroepitélio e a invasão dos tecidos (WOLLHEIN, 2009).

A *E. coli* possui fímbrias ou pili que fazem com que a mesma se adere com mais facilidade nas mucosas do hospedeiro. Elas também podem apresentar flagelos, que dão mobilidade as mesmas (MACHADO, 2010). Por ser uma bactéria que apresenta propriedades uropatogênicas específicas consegue facilmente invadir o trato urinário de pessoas saudáveis ou naqueles que o sistema imunológico encontra-se fragilizado (COSTA, 2011).

3.6 Cranberry

O *Vaccinium macrocarpon* conhecido popularmente como cranberry, é um fruto da família Ericaceae e é amplamente cultivado no hemisfério norte. É um arbusto que possui cerca de meio metro de altura, e o seu fruto é a parte da planta utilizada com fins terapêuticos. Na sua composição está presente a proantocianidina tipo A, uma substância com potência antioxidante 20 vezes maior que a vitamina C e 50 vezes mais potente que a vitamina E. No Brasil, o cranberry pode ser encontrado na forma de suco, comprimidos manipulados à base de extrato seco e também na forma de cápsulas gelatinosas (PALMA, 2013).

Este fruto apresenta na sua composição, componentes inorgânicos, mas também componentes de origem orgânica, como a glucose, frutose, vitaminas (A e C), compostos polifenólicos (taninos) e ácidos orgânicos. O componente citado de maior relevância para o tratamento e prevenção de infecções urinárias são os taninos que podem ser hidrolisáveis ou condensados também chamados de proantocianidinas ou simplesmente, PAC (TEIXEIRA, A, 2012; JESUS, 2013)

Figura 5: Fruto do *Vaccinium macrocarpon* (Cranberry)



Fonte: <http://www.naturofarma.com.br> (2015)

Foi inicialmente apreciado pelos norte-americanos devido a seus efeitos benéficos na dieta e como uma solução na desinfecção de feridas, redução da dor causado por indigestão e em higiene bucal e dental. Em diferentes países e culturas o cranberry foi utilizado no tratamento de pedras nos rins, outros problemas urinários, e também como remédio popular para ITU antes da introdução de antibióticos, sendo ainda amplamente usado para esta finalidade (DESSÍ; ATZEI; FANOS, 2011).

A sua atividade antisséptica e antimicrobiana foi durante muito tempo atribuída a provável capacidade de acidificar a urina, devido ao seu elevado teor de vitamina C e pela sua capacidade de metabolizar o ácido benzoico em ácido hipúrico. Contudo, em estudos mais recentes foi demonstrado que o suco do cranberry não altera de forma significativa o pH da urina (ALFONSO; CÓRCOLES, 2010; DESSÍ; ATZEI; FANOS 2011).

Segundo Vieira et al. (2005), a ingestão regular do suco de cranberry poderia reduzir a recorrência de infecção, causada pela *E. coli*, pelo fato dos frutos do gênero *Vaccinium* possuírem PAC. É conhecido que esses compostos possuem propriedades antivirais, antibacterianas, antiaderentes ou antioxidantes e que inibem a atividade das moléculas de adesão. O bloqueio da adesão fimbrial previne a *E. coli* e outras bactérias gram-negativas de colonizar as células uroepiteliais reduzindo significativamente uma bacteriúria e conseqüentemente o consumo de antibióticos.

Outras pesquisas também atribuíram a eficácia do cranberry na prevenção da ITU a suas propriedades antiaderentes, visto que a *E. coli*, principal causa desse tipo de infecção, possui adesinas fimbriais que são inibidas por compostos identificados nesse fruto, sendo um deles a PAC. Essa propriedade antiaderente provavelmente ajuda na prevenção da ITU por impedir diretamente que a *E. coli* se adira as células uroepiteliais (RAZ; CHASAN; DAN 2004).

Estudos confirmaram que as PACs do cranberry são bem absorvidas, sugerindo que, uma vez absorvidas na corrente sanguínea elas passam a ser vulneráveis a outros locais do corpo, podendo funcionar como agentes antiadesão e/ ou antioxidantes, confirmando que compostos do cranberry podem ser considerados ativos visto que são responsáveis pela antiadesão de micro-organismos, como no trato urinário (FREIXINHO, 2012).

4. METODOLOGIA

4.1 Material

Os produtos que foram utilizados neste estudo, tanto o suco concentrado quanto os extratos secos de cranberry, são normalmente consumidos como suplemento alimentar e foram adquiridos no comércio local, porém, suas marcas não serão divulgadas.

4.1.1 Suco concentrado de cranberry

O suco concentrado foi adquirido em uma loja de produtos naturais e foi utilizado como solução padrão [100%], sendo a partir dessa concentração, realizadas diluições destinadas às avaliações microbiológicas.

4.1.2 Extrato seco de cranberry

Os extratos secos (ES1 e ES2) foram adquiridos no comércio local e a partir deles preparou-se soluções teste pesando-se 800 mg dos ES1 e ES2 que foram diluídos em 1,0 mL de álcool a 40%, obtendo-se duas soluções com concentração de 800mg/mL.

Quadro 1 - Composição dos produtos de Cranberry testados

PRODUTO	*COMPOSIÇÃO
Extrato Seco 1	70 mg de Extrato de Cranberry 30 mg de Proantocianidinas
Extrato Seco 2	465 mg de Extrato de Cranberry 35 mg de Proantocianidinas
Suco	3600 µTE de Antioxidantes

*De acordo com as informações contidas nos rótulos fornecidos pelos fabricantes.

4.2 Cepas microbianas

Foram utilizadas 3 cepas multirresistentes de *Escherichia coli* isoladas de uroculturas cedidas por um laboratório da rede privada de Campina Grande – PB, além da cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922. As cepas selecionadas foram estocadas e mantidas em meios de culturas apropriados, de acordo com o CLSI (2012) e foram reavaliadas quanto ao seu perfil de resistência frente aos antimicrobianos de uso habitual.

4.3 Confirmação do perfil de resistência aos antimicrobianos – Antibiograma

Os antibiogramas foram realizados pelo método de disco difusão, seguindo as recomendações do CLSI (2012), utilizando-se os discos de antibióticos, série urinária, da Cefar®.

Quadro 2- Perfil de resistência das cepas de *Escherichia coli* aos antimicrobianos

Antimicrobianos	Perfil de resistência		
	Identificação das cepas		
	<i>E.coli</i> MR 01	<i>E.coli</i> MR 02	<i>E.coli</i> MR 03
Ácido Nalidíxo	S	R	R
Amicacina	S	S	S
Amoxicilina + Ác. Clavulânico	S	S	S
Cefalotina	R	S	R
Cefepima	R	S	S
Ciprofloxacino	S	R	S
Cloranfenicol	R	R	S
Levofloxacino	S	R	S
Meropenem	S	S	S
Norfloxacino	S	R	S
Sulfametoxazol-trimetropim	S	R	S
Tetraciclina	R	R	R
Ampicilina	S	R	R
Cefazolina	R	S	R
Ceftriaxona	R	S	S
Gentamicina	S	S	S
Nitrofurantoína	R	S	S

Legenda: S= Sensível; R= Resistente; MR= Multirresistente.

4.4 Meios de cultura

Foram utilizados: caldo BHI (Brain Heart Infusion), a fim de se observar a viabilidade dos micro-organismos e ágar Müeller-Hinton (MH) para o isolamento bacteriano e testes de atividade antimicrobiana e interação. Estes meios de cultura foram preparados de acordo com as instruções e recomendações do fabricante DIFICO®.

4.5 Preparo da suspensão microbiana (inóculo)

As cepas selecionadas foram semeadas em meios de culturas apropriados e incubadas por 24h a 37°C. Após este período, os inóculos foram preparados e

padronizados em solução fisiológica (NaCl 0,85%) esterilizada, comparando-se a turbidez da suspensão bacteriana com o tubo nº 0,5 da escala McFarland a fim de se obter cerca de 10^6 UFC/mL (CLSI, 2012).

4.6 Ensaios de atividade antimicrobiana

Foi feita uma triagem da atividade antimicrobiana dos produtos: SC, ES1 e ES2 pelo método de disco difusão, semeando-se a suspensão bacteriana, com auxílio de *swab* estéril, por toda superfície do Agar MH, de modo a se obter um crescimento uniforme e confluyente.

Utilizando-se uma pinça esterilizada os discos de papel de filtro Cefar®, previamente impregnados com as soluções em estudo, foram distribuídos uniformemente sobre a superfície do ágar. Os discos foram dispostos equidistantes de modo a não sobrepor as zonas de inibição. As placas foram incubadas invertidas a 37°C/24h e após este período foram realizadas a leitura e interpretação dos resultados, observando-se a presença ou não de halos de inibição de crescimento (mm), medidos através de um halômetro.

Os ensaios foram realizados em duplicata e os resultados foram expressos pela média aritmética dos diâmetros dos halos de inibição de crescimento. O produto testado é considerado ativo, quando a média dos halos de inibição for igual ou superior a 8 mm de diâmetro (NAQVI et al., 1991; CATÃO et al., 2005).

4.7 Determinação da Concentração Inibitória Mínima - CIM

Os testes para avaliar a CIM dos produtos testes foram realizados utilizando-se os mesmos critérios empregados nos ensaios de avaliação da atividade antimicrobiana. Os produtos teste que apresentaram atividade antimicrobiana na concentração inicial (100%), foram diluídos obtendo-se diferentes concentrações as quais foram utilizadas para impregnar novos discos de papel de filtro, previamente identificados.

Foi considerada a CIM, a menor concentração do produto capaz de inibir o crescimento microbiano, após incubação por 24h/37°C.

Cada ensaio foi realizado em duplicata e o resultado foi expresso pela média aritmética dos halos de inibição obtidos nos dois ensaios.

4.8 Avaliação do efeito interativo

Os discos contendo os antibióticos (série urinária- CEFAR®) foram embebidos com 20 µL dos produtos testes e em seguida colocados em placas de Petri estéreis contendo ágar MH inoculado com as suspensões bacterianas descritas anteriormente, com o auxílio de *swabs* estéreis. Após o semeio as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas, quando, então foram realizadas as leituras dos halos de inibição de crescimento que foram comparados com o diâmetro dos halos dos discos de antibióticos isolados.

Considerou-se que houve interação quando a associação dos produtos testes com os antibióticos alterou a zona de inibição (mm) referente à inibição para cada antibiótico isolado. O efeito interativo é considerado sinérgico quando o diâmetro do halo de inibição formado pela combinação do produto teste com o antimicrobiano apresentar aumento de ≥ 2 mm ao ser comparado com o halo de inibição formado pela ação do antimicrobiano isoladamente. Quando a formação do halo decorrente da ação combinada apresentar diâmetro inferior ao produzido pela ação isolada do antimicrobiano o efeito é considerado antagônico (OLIVEIRA et al., 2006; CATÃO et al., 2014; VIANA, 2014).

5. RESULTADOS

Os resultados encontrados a partir do teste de disco difusão demonstraram que o ES2 e o SC apresentaram atividade antibacteriana frente à cepa de *E.coli* ATCC 25922, pois foram capazes de formar halos de 10 e 15 mm respectivamente. Entretanto, o ES1 não apresentou atividade antibacteriana, assim como o álcool a 40% utilizado como diluente, visto que não foram formados halos de inibição. Ao testar esses produtos sobre as cepas multirresistentes foi observado que apenas o produto ES2 apresentou atividade antimicrobiana, uma vez que foi capaz de inibir o crescimento bacteriano, enquanto o SC e o ES1 não apresentaram atividade frente as cepas testadas (Tabela 1).

Tabela 1 - Avaliação da atividade antimicrobiana de produtos à base de cranberry frente a cepas de *Escherichia coli*

Identificação das cepas	Produtos testados / diâmetro dos halos em mm			
	Produtos de cranberry			*Álcool 40%
	ES1	ES2	SC	
<i>E.coli</i> ATCC 25922	00	10	15	00
<i>E.coli</i> MR 01	00	12	00	00
<i>E.coli</i> MR 02	00	00	00	00
<i>E.coli</i> MR 03	00	12	00	00

Legenda: ES1= Extrato seco 1; ES2 = Extrato seco 2; SC = Suco concentrado; MR = Multirresistente; *diluente utilizado para solubilizar a amostra = controle negativo.

Observou-se que o ES1 apresentou pouca solubilidade em relação ao ES2 sendo por este motivo excluído dos demais ensaios.

A CIM dos produtos ES2 e SC, que foram os que apresentaram atividade frente à cepa ATCC, foi determinada pelo método de disco difusão, onde se observou que o ES2 apresentou atividade apenas na concentração inicial [800 mg/mL], enquanto o SC ainda manteve sua atividade nas diluições seguintes, considerando-se a CIM a concentração de 25% (Tabela 02).

Tabela 2 - Determinação da CIM dos produtos de cranberry frente à *E. coli* ATCC 25922

Micro-organismo testado	Produtos de cranberry/diâmetro dos halos em mm							
	ES2 [mg/mL]				SC [%]			
	800	400	200	100	50	25	12,5	
<i>E.coli</i> ATCC 25922	10	00	00	15	15	10	00	

Legenda: ES2 = Extrato seco 2; SC = Suco concentrado.

Posteriormente, a fim de se observar o efeito interativo entre os produtos de cranberry e alguns antibióticos da classe das quinolonas, os discos de antibióticos foram embebidos com as soluções preparadas a partir do ES2, mesmo com aquelas que não tiveram atividade, [400mg/mL] e [200mg/mL] (Tabela 3), e com o SC (Tabela 4). Foi constatado que os produtos em diferentes concentrações agiram diminuindo o tamanho do halo dos quatro antibióticos testados sobre a cepa ATCC.

Tabela 3 - Avaliação do efeito interativo *in vitro* entre diferentes concentrações da solução hidroalcoólica do extrato seco de cranberry (ES2) e quinolonas, frente à *E. coli* ATCC 25922

Produtos testados		Diâmetros dos halos de inibição de crescimento (mm)
NOR [10 µg]		30 (*VR= 28-35mm)
NOR + ES2	[800mg/mL]	29
	[400mg/mL]	29
	[200mg/mL]	30
LEV [5µg]		31 (*VR= 29-37mm)
LEV + ES2	[800mg/mL]	30
	[400mg/mL]	30
	[200mg/mL]	30
CIP [5µg]		35 (*VR= 30-40mm)
CIP + ES2	[800mg/mL]	32
	[400mg/mL]	32
	[200mg/mL]	32
NAL [30µg]		24 (*VR= 22-28mm)
NAL + ES2	[800mg/mL]	23
	[400mg/mL]	22
	[200mg/mL]	22

Legenda: NOR = Norfloxacin; LEV = Levofloxacin; CIP = Ciprofloxacin; NAL = Ácido Nalidíxo; ES2 = Extrato seco 2. *VR = Valor de referência do diâmetro do halo de inibição para a *E.coli* ATCC 25922.

Tabela 4 - Avaliação do efeito interativo *in vitro* entre diferentes concentrações do suco concentrado de cranberry e quinolonas frente à *E. coli* ATCC 25922

Produtos testados		Diâmetros dos halos de inibição de crescimento (mm)
NOR [10 µg]		30 (*VR= 28-35mm)
NOR + SC	[100 %]	29
	[50 %]	27
	[25 %]	26
LEV [5µg]		31 (*VR= 29-37mm)
LEV + SC	[100 %]	30
	[50 %]	29
	[25 %]	27
CIP [5µg]		35 (*VR= 30-40mm)
CIP + SC	[100 %]	30
	[50%]	30
	[25 %]	30
NAL [30µg]		24 (*VR= 22-28mm)
NAL + SC	[100 %]	24
	[50 %]	24
	[25 %]	24

Legenda: NOR= Norfloxacino; LEV= Levofloxacino; CIP = Ciprofloxacino; NAL= Ácido Nalidíxo; SC= Suco concentrado. *VR = Valor de referência do diâmetro do halo de inibição para a *E.coli* ATCC 25922.

Os produtos utilizados foram testados *in vitro* em suas concentrações iniciais sobre cepas de *E. coli* multirresistentes. Os resultados encontrados foram semelhantes aos encontrados sobre a cepa ATTC, visto que em sua maioria os produtos interferiram diminuindo os halos dos antibióticos. Os resultados estão descritos nas tabelas 5 e 6.

Tabela 5 - Avaliação do efeito interativo *in vitro* entre a solução hidroalcoólica do extrato seco de cranberry e quinolonas, frente às cepas de *E.coli* multirresistentes

Produtos testados	Micro-organismos testados / Diâmetros dos halos de inibição de crescimento (mm)		
	<i>E.coli</i> MR 01	<i>E.coli</i> MR 02	<i>E.coli</i> MR 03
NOR [10 µg]	25	0	25
NOR + ES2 [800mg/mL]	17	0	20
LEV [5µg]	26	0	22
LEV + ES2 [800mg/mL]	19	0	13
CIP [5 µg]	25	0	26
CIP + ES2 [800mg/mL]	20	0	20
NAL [30µg]	20	0	13
NAL + ES2 [800mg/mL]	18	0	11

Legenda: NOR= Norfloxacino; LEV= Levofloxacino; CIP = Ciprofloxacino; NAL= Ácido Nalidíxo; ES2: Extrato seco de cranberry 2.

Tabela 6 - Avaliação do efeito interativo *in vitro* entre o suco concentrado de cranberry e quinolonas frente às cepas de *E. coli* multirresistentes

Produtos testados	Micro-organismos testados / Diâmetros dos halos de inibição de crescimento (mm)		
	<i>E.coli</i> MR 01	<i>E.coli</i> MR 02	<i>E.coli</i> MR 03
NOR [10 µg]	25	0	25
NOR + SC [100%]	20	0	20
LEV [5µg]	26	0	22
LEV + SC [100%]	25	0	21
CIP [5 µg]	25	0	26
CIP + SC [100%]	24	0	25
NAL [30µg]	20	0	13
NAL + SC [100%]	10	0	10

Legenda: NOR= Norfloxacino; LEV= Levofloxacino; CIP = Ciprofloxacino; NAL= Ácido Nalidíxo; SC= Suco concentrado.

6. DISCUSSÃO

Os resultados da atividade antimicrobiana *in vitro* encontrados neste estudo estão em concordância com os encontrados por Côté et al. (2011), uma vez que utilizaram em seu trabalho diferentes extratos, além do suco natural de cranberry, e estes obtiveram diferentes respostas sobre a *E. coli* ATCC 25922. Apesar do referido estudo ter encontrado atividade antimicrobiana utilizando produtos a base de cranberry, houve uma diferença em relação aos produtos que apresentaram atividade ao comparar com a presente pesquisa, visto que Côté et al. (2011), observaram que o suco de cranberry mesmo utilizado em diferentes concentrações não foi capaz de inibir o crescimento das bactérias utilizadas, enquanto os dois extratos secos testados apresentaram atividade antimicrobiana.

Os compostos fenólicos, como os taninos poliméricos, são considerados os componentes com maior relevância no tratamento contra bactérias patogênicas (JESUS, 2013). Porém, de acordo com os achados de Côté et al. (2011), o extrato de cranberry contendo maior número de compostos fenólicos apolares, entre eles taninos poliméricos, não foi eficiente em inibir os micro-organismos utilizados, enquanto o que possuía uma menor quantidade, mas entre eles os flavonoides, apresentou maior propriedade antibacteriana.

Ibahim et al. (2015), também afirmaram que ao utilizar diferentes solventes os extratos de cranberry apresentam diferentes atividades. Foi observado que o extrato metanólico inibiu de maneira mais significativa o crescimento bacteriano *in vitro* do que o extrato aquoso, enquanto no presente estudo a solução hidroalcoólica apresentou uma considerável atividade antimicrobiana. Resultado semelhante foi encontrado por Rahbar e Diba (2010) que comprovaram o efeito antimicrobiano do extrato metanólico de cranberry em diferentes concentrações, visto que foram capazes de inibir o crescimento de micro-organismos uropatogênicos dentre eles a *E. coli*.

Entretanto, segundo estudo realizado *in vitro* por Monroy-Torres e Macias (2005) foi observado que o suco de cranberry não apresentou um efeito bacteriostático sobre as cepas de *E. coli* testadas, sugerindo-se que os efeitos benéficos do cranberry estariam relacionados não com a inibição da multiplicação bacteriana e sim com aderência das bactérias ao trato urinário.

Devido à dificuldade de solubilização apresentada pelo ES1, este produto foi excluído dos demais ensaios de atividade antimicrobiana, que foram realizados apenas com os demais produtos (ES2 e SC).

A padronização de produtos à base de plantas, fundamentada na análise química é uma avaliação indispensável no controle de qualidade, visto que as matérias primas vegetais podem apresentar variabilidade na composição química dependendo de diversos fatores como ritmo circadiano, sazonalidade, desenvolvimento do vegetal, temperatura, nutrientes, altitude, disponibilidade hídrica, entre outros. Se esses aspectos não estiverem adequados, muito possivelmente a concentração de constituintes químicos dos vegetais irá sofrer alterações comprometendo a qualidade do produto e consequentemente a sua atividade (NEIVA et al., 2011).

Considerando que os produtos utilizados nessa pesquisa foram adquiridos em diferentes locais, provenientes de diferentes fornecedores, as diferenças climáticas e ambientais de onde o fruto foi retirado para a produção do extrato, podem ter influenciado na atividade antibacteriana do produto. Por isso, ressalta-se a importância do controle de qualidade fitoterápico.

Estes dados estão compatíveis com os relatados por Sánchez-Patán et al. (2012), que analisaram 19 produtos comerciais de cranberry adquiridos nos mercados americanos e europeus, por diferentes métodos de determinação de compostos fenólicos, além de testes *in vitro* para avaliar a capacidade antioxidante e a atividade de antiadesão bacteriana. E, concluíram que os produtos disponíveis no mercado possuem uma ampla diferença no seu conteúdo, alguns, inclusive, completamente desprovidos de proantocianidinas e outros com elevada quantidade. Este fato ocasiona diferenças significativas na atividade de antiadesão do produto, o que pode justificar as disparidades encontradas nos resultados de diversos estudos, também a respeito da atividade antimicrobiana do cranberry.

Evidentemente, estudos *in vitro* diferem bastante dos *in vivo*, porém, em ambos os tipos de modelos muitas vezes ressaltam-se as atividades biológicas do cranberry, quer seja reduzindo a carga microbiana ou a aderência de micro-organismos. De acordo com Palma (2013), em diversos estudos incluindo grande número de mulheres, foi concluído que a utilização do cranberry pode reduzir significativamente a quantidade de ITU de repetição. Nesse mesmo estudo, foi constatado que o extrato de cranberry na dose de 500 mg/dia durante 12 meses demonstrou eficácia significativa com relação ao risco de desenvolvimento de ITU, quando comparado com o controle ou placebo.

Caljouw et al. (2014), avaliaram a eficácia de cápsulas de cranberry para prevenir a ITU em pacientes idosos. Foi observado que naqueles com alto risco de infecção do trato urinário, a ingestão de duas doses diárias de cápsulas de cranberry de 500mg resultou em uma incidência 26% inferior do que nos que usaram placebo. Resultado semelhante foi encontrado por Pina et al. (2011), que em quatro estudos com 779 participantes, destes 85% do sexo feminino, o cranberry na forma de suco ou cápsulas mostrou efeito na prevenção da recorrência de ITU.

Outro estudo que afirma que o cranberry apresenta atividade antimicrobiana foi realizado por Raz, Chasan e Dan, (2004), que forneceram cápsulas de cranberry [400mg] e cápsulas placebo durante três meses a mulheres que apresentavam quadro de ITU de repetição. Foi observada uma diminuição considerável nos casos de ITU entre as mulheres que utilizavam a cápsulas de cranberry.

Entretanto, Tavares et al. (2011) avaliaram mulheres com dois ou mais episódios de ITU nos últimos 12 meses, submetidas à terapêutica com uso do extrato de cranberry na dose de 500 mg/dia ou trimetoprim 100mg/dia pelo período de seis meses. Foi observado que o tempo médio de recorrência da ITU apresentou-se menor mediante uso de cranberry, enquanto os pacientes em uso do trimetoprim demoraram um pouco mais a apresentar nova recorrência, constatando que o cranberry não foi tão efetivo quanto o medicamento na prevenção da ITU.

Apesar de muitos estudos afirmarem a atividade antibacteriana dos produtos de cranberry sobre cepas de *E. coli*, não se ressalta as interações desses produtos com antimicrobianos. Esse fato é de extrema relevância, visto que a utilização de cranberry como forma de tratamento vem crescendo significativamente, e a população muitas vezes utiliza os antimicrobianos prescritos associados aos produtos naturais, por acreditarem que desta forma vão obter um melhor resultado.

Segundo Oliveira et al. (2006), as plantas são muito utilizadas concomitantemente ao uso de medicamentos convencionais, e desta forma as plantas medicinais ou os produtos provenientes delas, podem atuar inibindo ou intensificando o efeito terapêutico de medicamentos convencionais, como também não interferir na resposta esperada.

Estudos *in vivo* realizados por Li et al. (2009), que avaliaram a absorção de dois antimicrobianos, a amoxicilina e o ceflacor, quando tomados associados ao cranberry, observaram que apesar de atrasar um pouco a absorção, esse atraso não foi considerado

cl clinicamente significativo, concluindo que na concentração utilizada não houve interação do suco de cranberry com os antibióticos.

Porém, ao associar *in vitro* a solução de cranberry com discos dos antibióticos, tobramicina, gentamicina e sulfonamida, Viana et al. (2012) constataram que houve redução nos diâmetros dos halos de inibição na maioria das cepas testadas. Fato também observado em outro estudo, ao adicionar um produto à base de cranberry, a discos de nitrofurantoína e testado frente a *E. coli* ATCC 25922 (VIANA, 2014).

Os produtos de cranberry utilizados neste estudo mostraram interferência *in vitro* na ação de alguns antimicrobianos rotineiramente utilizados na clínica médica, reduzindo discretamente o diâmetro dos halos de inibição de crescimento, quando comparados aos halos formados pelos antibióticos testados isoladamente, indicando interação antagônica. Resultados semelhantes foram encontrados por Catão et al. (2012), ao avaliarem a interação entre soluções de cranberry e as quinolonas: ciprofloxacino, norfloxacino, levofloxacino e lomefloxacina. Resultado compatível aos encontrados nesse estudo onde se constatou que as soluções de cranberry testadas, também, induziram um efeito redutor sobre a atividade *in vitro* das quinolonas.

Diferentes efeitos interativos entre antimicrobianos associados a uma solução de cranberry [200mg/mL] foram relatados por Catão et al. (2014), que destacaram a presença de efeito antagônico na associação com a tobramicina em 100% das cepas de *E. coli* testadas. No entanto, relataram presença de efeito sinérgico, nas associações com cloranfenicol, ceftazidima, meropenem, em respectivamente 40, 20 e 10% das cepas testadas.

Os efeitos interativos sugerem que apesar dos produtos à base de cranberry e os antibióticos apresentarem atividade antibacteriana isoladamente, quando associados, a eficácia destes pode ficar comprometida, dificultado o tratamento das infecções. Os mecanismos pelos quais estes fatos ocorrem *in vitro* ainda precisam ser esclarecidos.

7. CONCLUSÕES

Os resultados encontrados neste estudo *in vitro* permitiram concluir que:

- As amostras de cranberry analisadas possuem diferenças em suas composições, visto que apresentaram atividades distintas frente às linhagens de *E. coli* ensaiadas;
- O efeito interativo entre as amostras de cranberry e as quinolonas testadas, demonstrou que houve uma discreta redução no diâmetro dos halos de inibição de crescimento;
- As interações antagônicas podem reduzir a eficácia de antibióticos amplamente utilizados no tratamento de infecções urinárias, dificultando os tratamentos convencionais e contribuindo para o aumento da resistência bacteriana.

Desta forma, sugere-se que novos estudos sejam realizados, visando determinar os constituintes químicos presentes nos produtos à base de cranberry e os mecanismos envolvidos na inibição do crescimento bacteriano e diminuição dos halos inibição dos antibióticos, de forma que sejam obtidas informações que minimizem problemas que possam ser provocados pelo uso inadequado de antimicrobianos associados a produtos naturais e possam comprovar a utilização do *V. macrocarpon* como alternativa terapêutica, profilática, segura e eficaz.

Apesar do trabalho em questão não abranger controle de qualidade, ficou claro a importância de uma padronização de produtos fitoterápicos, uma vez que produtos vendidos como sendo à base de cranberry apresentaram diferentes respostas quando testados *in vitro* frente à micro-organismos isolados de urocultura e a cepa de *E. coli* ATCC 25922.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFONSO, F. N.; CÓRCOLES, M. N. Arándano americano (*Vaccinium macrocarpon*): conclusiones de la investigación y de la evidencia clínica. **Revista de Fitoterapia**, v. 10, n.1, p. 5-21, 2010.

ANDRADE, S. R. A. **Atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos hidroalcoólicos sobre cepas resistentes de *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Providencia rettgeri*. Campina Grande – PB. 2013. 20 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande. 2013.**

ARANTES, A. V.; ANDRADE, M. C.; BARACHO, N. C. V. Estudo da Atividade Antimicrobiana das Folhas de *Jatropha curcas* L. frente ao *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Revista Ciências em Saúde**, v. 3, n.2, 2013.

BORGES, A. A.; MAGALHÃES, L. G.; JABUR, A. P. L.; CARDOSO, A. M. Infecção urinária em gestantes atendidas em um laboratório clínico de Goiânia-GO entre 2012 e 2013. **Goiânia estudos**, v. 41, n. 3, p. 637-648, 2014.

CALJOUW, M. A. A.; VAN DEN HOUT, W. B.; PUTTER, H., ACHTERBERG, W. P.; COOLS, H. J. M.; GUSSEKLOO, JACOBIIJN. Effectiveness of Cranberry Capsules to Prevent Urinary Tract Infections in Vulnerable Older Persons: A Double-Blind Randomized Placebo-Controlled Trial in Long-Term Care Facilities. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 62, p. 103–110, 2014.

CATÃO, R. M. R.; BARBOSA-FILHO, J. M.; GUTIERREZ, S. J. C.; LIMA, E. O. L.; PEREIRA, M. S. V.; ARRUDA, T. A.; ANTUNES, R. M. P. Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Riparinas sobre Cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* Multirresistentes. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 37, n. 4, p. 247-249, 2005.

CATÃO, R. M. R.; ROCHA, W. R. V.; VIANNA, A. P. P.; NUNES, L. E.; SILVA, P. M. F.; MEDEIROS, A. C. D. Avaliação atividade antimicrobiana isolada e interativa entre uma solução de cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) e quinolonas sobre linhagens de *Escherichia coli*. **Anais. XXI Congresso Latino-Americano de Microbiologia**. Santos – SP, 2012.

CATÃO, R. M. R.; NUNES, L. E.; VIANNA, A. P. P.; ROCHA, W. R. V.; MEDEIROS, A. C. D. Atividade antibacteriana e efeito interativo *in vitro* de um produto a base de cranberry sobre *Escherichia coli* **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 4, p. 723-729, 2014.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE – CLSI. Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-Difusão. Norma Aprovada – M100-S22, vol.32, n.3. 2012. Disponível em:
<http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi_OPASM2-A8.pdf > Acesso em: 01 Maio. 2015.

COIMBRA, M. V. S.; FILHO, M. V. S. C.; LIMA, N. C. Estudo da prevalência e dos índices de resistência microbiana em um hospital público do Rio de Janeiro. **Revisa**, v.1, n. 1, p. 58-67, 2012.

CORREIA, C.; COSTA, E.; PERES, A.; ALVES, M.; POMBO, G.; ESTEVINHO, L. Etiologia das infecções do tracto urinário e sua susceptibilidade aos antimicrobianos. **Acta Medica Portuguesa**, v. 20, p. 543-549, 2007.

COSTA, N. B. **Estudo dos agentes infecciosos e da resistência bacteriana em infecções do trato urinário**. 2011. 27 f. Monografia (Biologia) – Universidade de Brasília, Universidade Estadual de Goiás, Brasília. 2011.

CÔTÉ, J.; CILLET, S.; DOYON, G.; DUSSAULT, D.; SYLVAIN, J. F.; LACROIX, M. Antimicrobial effect of cranberry juice and extracts. **Food Control**, v. 22, n. 8, p. 1413-1418, 2011.

DA SILVA, J. I. P. **Sensor eletroquímico seletivo para a Norfloxacin**. 2013. 63f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Computação e Instrumentação Médica) - Instituto Superior de Engenharia do Porto. Porto, 2013.

DA SILVA, J. R.; DOS SANTOS, R. H. T. FRAGA, L. E.; ZANTA, C. L. P. S.; GARCIA, C. A. B.; ARGUELHO, M. L. P. M. Desenvolvimento de Metodologia Eletroquímica para Degradação da Ciprofloxacina por Agentes Oxidantes Gerados *in situ*. **The Electronic Journal of Chemistry**, v. 5, n. 1, 2013.

DESSÌ, A.; ATZEI, A.; FANOS, V. Cranberry in children: prevention of recurrent urinary tract infections and review of the literature. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 21, n. 5, p. 807-813, 2011.

FREITAS, R. C.; SÁ, R. R. DE.; SOUZA, L. I. O.; ROCHA, T. J. M.; SANTOS, A. F. dos. Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante das espécies *Plectranthus amboinicus* (Lour.) e *Mentha x villosa* (Huds.) **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n.1, p.113-118, 2014.

FREIXINHO, A. B. **Efeito antiaderente *in vitro* do suco concentrado de cranberry sobre o *Streptococcus mutans***. 2012. 70f. Dissertação (Mestrado em Odontopediatria) - Universidade do Grande Rio Professor José de Souza Herdy, Duque de Caxias. 2012

HEILBERG, I. P.; SCHOR, N. Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário – ITU. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 49, n.1, p. 109-16, 2003.

IBRAHIM, O. M. S.; SARHAN, S. R.; HAMEED, A. A. *In Vivo* and *In Vitro* Antibacterial Activities of Cranberry Extract against *E. coli* O157:H7 in Urinary Tract Infected Rats. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v. 3, n. 4, p. 233 -244. 2015.

JESUS, T. F. P. **O Mirtilo e suas Propriedades Terapêuticas**. 2013. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde, Porto. 2013.

LI, M.; ANDREW, M. A.; WANG, J.; SALINGER, D. H.; VICINI, P.; GRADY, R. W.; PHILLIPS, B.; SHEN, D. D.; ANDERSON, G. D. Effects of Cranberry Juice on Pharmacokinetics of β -Lactam Antibiotics following Oral Administration. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 7, p. 2725–2732, 2009.

LIMA, A. P. L.; GROSSO, E. S. B.; FERREIRA, G.; ANDRADE, M. C. Efeito Antimicrobiano do Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de pacientes de um hospital escola do Sul de Minas. **Revista Ciências em Saúde**, v.4, n.2, 2014.

LOPES, P. M.; QUEIROZ, T. F. F.; RODRIGUES, F. C.; CASTRO, A. S. B. *Escherichia coli* como agente etiológico de infecções do trato urinário em pacientes do município de Viçosa-MG. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 93, n. 1, p.43-47, 2012.

LOGUERCIO, A. P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A. C.; HENZEL, A., WITT, N. M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n.2, p. 371-376, 2005.

LOUREIRO, R. J. S. **Perfis de resistência microbiana no hospital infante d. Pedro**. 2012. Dissertação (Pós- Graduação em Biomedicina molecular) – Universidade de Aveiro, Aveiro. 2012.

MACHADO, L. D. P. N. **Estudo da prevalência de uropatógenos e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos no serviço de pronto atendimento da Universidade Regional de Blumenau**. 2010. 41f. Trabalho de Conclusão de Curso (Farmácia) – Universidade Regional de Blumenau, Blumenau. 2010.

MONROY-TORRES, R.; MACIAS, A. E. ¿Es bacteriostático el jugo de arándano? **Revista de investigacion clínica**, v. 57, n. 3, p. 442- 446, 2005.

NAQVI, S. H.; KILIAN, M. S. Y.; VOHORA, S. B. Anti-bacterial, anti-fungal and antihelminthic investigations on Indian medicinal plants. **Fitoterapia**, São Paulo, v. 62, n.3, p. 221-228, 1991.

NEIVA, V. A.; RIBEIRO, M.; NILCE. S.; CARTÁGENES, M. S. S.; MORAES-COUTINHO, D. F.; NASCIMENTO, F. R. F.; REIS, A. S.; AMARAL, F. M. M. Estudos pré-clínicos de atividade giardicida de *Chenopodium ambrosioides* L. E a padronização dos extratos na pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos. **Revista Ciências da Saúde**, v.13, n. 2, p. 155-165, 2011.

NISHIURA, J. L.; HEILBERG, I. P. Infecção urinária. **Revista Brasileira de Medicina**, São Paulo, v. 66, n. 10, p. 5-12, 2009.

OLIVEIRA, F. A. **Características de virulência e susceptibilidade a antimicrobianos em estirpes de *Escherichia coli* uropatogênica**. 2011. Dissertação (Pós - Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2011.

OLIVEIRA, M. J. C. P. **Estudo de resistência da bactéria *Escherichia coli* a antibióticos em infecções urinárias na população da Região Autónoma da Madeira**.

2010. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Aplicada) – Universidade da Madeira, Portugal. 2010.

OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; VIEIRA, W. L.; FREIRE, K. R. L.; TRAJANO, V. N.; LIMA, I. O.; SOUZA, E. L.; TOLEDO, M. S.; SILVA-FILHO, R. N. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 77-82, 2006.

PALMA, P. Cistite na mulher. **Revista Brasileira de Medicina**, Campinas, v. 70, n. 10, p. 350-357, 2013.

PEREIRA, R. S.; SUMITA, T. C.; FURLAN, M. R.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 2, p. 326- 328. 2004.

PINA, A. Figueiredo, A. R.; Campos A.; Ferreira, C.P.; Lopes, I.; Alves, N. F.; Ribeiro, I. Arando na profilaxia das infecções urinárias recorrentes: revisão baseada na evidência. **Revista Portuguesa de Clínica Geral**, Lisboa, v. 27, n.5, p. 452- 457, 2011.

PRIMANI, P. **Desenvolvimento de um método simples, limpo e rápido para a determinação de fluoroquinolonas em formulações farmacêuticas**. 2014. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual Paulista, Araquara. 2014.

QUINTERO, M.; QUINTERO, A.; GONZALEZ, M. Y.; VILLAMIZAR, J.; ODREMAN, I.; MILANO, B.; HURTADO, A.; CALDERA, A. MÉNDEZ, G.; VALERO, Z.; GONÇALVES, T.; ANGARITA, A. Bioequivalencia de una dosis de Levofloxacin, **Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica**, v. 31, n.1, p. 19 – 22, 2012.

RAHBAR, M.; DIBA, K. *In vitro* activity of cranberry extract against etiological agents of urinary tract infections. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 4, n.5, p. 286-288, 2010.

RAZ, R.; CHAZAN, B.; DAN, M. Cranberry Juice and Urinary Tract Infection. **Clinical Infectious Diseases**, Israel, v. 38, p. 1413-1419, 2004.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. **Rang & Dale Farmacologia**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

REIS, H. P. L. C.; VIEIRA, J. B.; MAGALHÃES, D. P.; SARTORI, D. P., FONSECA, D. B.; VIANA, J. M.; CUNHAS, F. A. Avaliação da resistência microbiana em hospitais privados de Fortaleza – Ceará. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 94, n.1, p. 83-87, 2013.

REIS, F. C. C.; **Investigação química de complexos de coordenação dos antibióticos enrofloxacin e norfloxacin combinados ao íon Ru(III) e suas interações com biomolécula alvo**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2014.

RODRIGUES-SILVA, C.; MANIERO, M. G.; PERES, M. S.; GUIMARÃES, J. R. Ocorrência e degradação de quinolonas por processos oxidativos avançados. **Química Nova**, v. 37, n. 5, p. 868-885, 2014.

SANTANA, T. C. F. S.; PEREIRA, E. M. M.; MONTEIRO, S. G.; CARMO, M. S.; TURRI, R. J. G.; FIGUEIREDO, P. M. S. Prevalência e resistência bacteriana aos agentes antimicrobianos de primeira escolha nas infecções do trato urinário no município de São Luís-MA. **Revista de patologia tropical** v. 41, n.4, p. 409-418. 2012.

SÁNCHEZ-PATÁN, F.; BARTOLOMÉ, B. MARTÍN-ALVAREZ, P. J.; ANDERSON, MARK.; HOWELL, A.; MONAGAS, M. Comprehensive assessment of the quality of commercial cranberry products. Phenolic characterization and *in vitro* bioactivity. **Journal Agricultural Food Chemicals**, v. 60, n. 13, p. 3396-408, 2012.

SANTOS, R. L.; GUIMARAES, G. P.; NOBRE, M. S. C.; PORTELA, A. S. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai.**, Botucatu, v.13, n.4, p.486-491, 2011.

SILVA, F. R. Avaliação da atividade antibacteriana de extratos de *Annona muricata* L. (Annonacea). 2011. 17 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande. 2011.

SOARES, S. P.; VINHOLIS, A. H. C.; CASEMIRO, L. A.; SILVA, M. L. A.; CUNHA, W. R.; MARTINS, C. H. G. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre microorganismos da cárie dental. **Revista Odontologia Ciênci.** v. 23, n.2, p.141-144, 2008.

SOUZA, T. K.; SILVA, C. M.; BENITEZ, L. B.; POSER, G. L. V.; ZUANAZZI, J. A. S. Atividade antibacteriana do extrato aquoso de *Tripodanthus acutifolius* frente a *Staphylococcus aureus*. **Revista Jovens Pesquisadores**, Santa Cruz do Sul, v. 4, n. 1, p. 6-18, 2014.

TAVARES, W.; Lopes, H. V.; Castro, R.; Poli, M.; Sartori, M.; Girão, M.; Lorenzetti, F.; Simões, R. Sociedade Brasileira de Infectologia/ Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia/ Sociedade Brasileira de Nefrologia/ Sociedade Brasileira de Urologia. Cistite recorrente: Tratamento e prevenção. **Diretrizes Clínicas na Saúde Suplementar**. 2011

TERRÍVEL, J.; RODRIGUES, A. T.; FERREIRA, M.; NEVES, CLARINDA.; ROQUE, F.; CRUZ E SILVA, O. A. B da.; FIGUEIRAS, A.; HERDEIRO, M.T. Conhecimento dos médicos relativo à prescrição de antibióticos e à resistência microbiana: estudo piloto de comparação de questionário online vs papel. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 3, n. 3, p. 93-98, 2013.

TEIXEIRA, A. C. J. **Fitoterapia aplicada à prevenção e tratamento de infecções urinárias**. 2012. 46 f. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde, Porto. 2012.

TEIXEIRA, M. D. S. **Antibióticoterapia: visão do paciente quanto aos riscos da automedicação – levantamento de dados em uma farmácia de bairro no município**

de Ararangua – SC. 2012. 67 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Farmácia) - Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, Criciúma. 2012

VIANA, A. P. P. NUNES, L. E.; ROCHA, W. R. V.; FERNANDES, F. H. A.; BRANDÃO, D. O.; MEDEIROS, A. C. D. de.; CATÃO, R. M. R. Avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana e do efeito associativo entre solução de Cranberry e drogas antimicrobianas frente a cepas de *Escherichia coli*. **Anais.** XXII Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil. Bento Gonçalves- RS, 2012.

VIANA, A. P. P. **Atividade biológica de produtos de *Vaccinium macrocarpon aiton* sobre micro-organismos de importância clínica.** 2014. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande. 2014.

VIEIRA, O. M. C.; SANTOS, M.H.; SILVA, G.A.; SIQUEIRA, A.M.; Atividade antimicrobiana de *Struthanthus vulgaris* (erva-de-passarinho). **Revista Brasileira de Farmacognosia.**, v. 15, n. 2, p. 149-154, 2005.

WOLLHEIN, C. **Epidemiologia molecular de *Escherichia coli* e *Klebsiella spp* produtoras de beta-lactamase de espectro ampliado.** 2009. 155 f. Tese de Doutorado (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade de Caixias do Sul, Caixias do Sul. 2009