



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

LUÍS ANDRÉ DE ALMEIDA CAMPOS

**AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO ANTIMICROBIANA DE FÁRMACOS COMERCIAIS
COM EXTRATOS DE PLANTAS DO CERRADO FRENTE A ISOLADOS CLÍNICOS
DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTE À METICILINA**

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
NÚCLEO DE BIOLOGIA

LUÍS ANDRÉ DE ALMEIDA CAMPOS

**AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO ANTIMICROBIANA DE FÁRMACOS COMERCIAIS
COM EXTRATOS DE PLANTAS DO CERRADO FRENTE A ISOLADOS CLÍNICOS
DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTE À METICILINA**

TCC apresentado ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Profa. Dra. Isabella Macário Ferro Cavalcanti

Co-orientador: Dr. Thiago Antônio de Sousa Araújo

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2016

Catálogo na Fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Roseane Souza de Mendonça, CRB4-1148

C198a Campos, Luís André de Almeida.

Avaliação da interação antimicrobiana de fármacos comerciais com extratos de plantas do cerrado frente a isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina / Luís André de Almeida Campos. Vitória de Santo Antão: O Autor, 2016.

51f.

Orientador: Isabella Macário Ferro Cavalcanti.

Coorientador: Thiago Antônio de Sousa Araújo.

TCC (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, CAV. Núcleo de Biologia, 2016.

Inclui bibliografia.

1. Plantas – Cerrado - Brasil. 2. Fármacos comerciais - Interação antimicrobiana. 4. Extrato de plantas – Interação antimicrobiana. 5. *Staphylococcus aureus*. I. Cavalcanti, Isabella Macário Ferro (Orientador). II. Araújo, Thiago Antônio de Sousa (Coorientador). III. Título.

582 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-024/2016

LUÍS ANDRÉ DE ALMEIDA CAMPOS

**AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO ANTIMICROBIANA DE FÁRMACOS COMERCIAIS
COM EXTRATOS DE PLANTAS DO CERRADO FRENTE A ISOLADOS CLÍNICOS
DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTE À METICILINA**

TCC apresentado ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 12/01/2016

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Isabella Macário Ferro Cavalcanti (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Maria Carolina Accioly Brelaz de Castro
Universidade Federal de Pernambuco

Mestrando Alyson Mykael Albuquerque Florenço
Programa de Pós-graduação em Biologia Aplicada a Saúde

Ao meu pai, Severino Campos e à minha tia, Josefa Almeida por estarem sempre ao meu lado contribuindo na formação do meu carácter e encorajando-me a vencer todos os obstáculos que se apresentaram em toda minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, o Pai de infinito amor, de bondade e misericórdia, por oportunizar essa fase de aprendizado e crescimento na dimensão intelectual, pessoal, profissional e também espiritual.

Ao Jesus, irmão querido e amado e a toda plêiade de espíritos amigos pela força interior que me foi ofertada para finalização desse momento e começo de outros novos momentos.

Aos meus pais, Severino Carneiro Campos, Maria Lúcia de Almeida (em memória) e a Josefa Maria de Almeida por todo amor e carinho, pela preocupação, por acreditarem em mim e no meu potencial e pelo exemplo de honestidade, caráter, boas virtudes, bem como pela contribuição na formação de minha integridade intelecto-moral.

Ao Eduardo Carlos Almeida de Lima por todo amor, carinho dedicado a mim em todos os momentos de minha vida. Obrigado pelo apoio, pela paciência, pela compreensão e por todos os momentos bons que compartilhamos juntos.

A minha orientadora, Isabella Macário, por todo apoio, por todo conhecimento que me ajudou a adquirir, pela amizade sincera, pela boa companhia e pela inspiração em como ser um bom professor, um bom orientador e uma pessoa melhor.

Aos meus familiares que foram muito importantes nesse processo, por toda a ajuda, por todo apoio, por toda dedicação, por acreditarem e confiarem em mim e principalmente por todo o amor que me foi dado, sem esse amor eu não teria conseguido essa conquista.

Aos amigos que sempre tiveram pensamentos positivos e apoiaram-me nessa escolha e fase de minha vida, por toda compreensão nos momentos que não estavam presente.

Aos amigos da graduação que me fizeram aprender muito em diversos aspectos, em especial a Steliane Lima pela companhia durante toda a graduação, e pela sua amizade sincera e afetuosa.

A família espírita por constantemente estarem sempre fazendo prece e emitindo boas vibrações, por me apoiarem em minhas decisões e estarem lembrando-me que somos espíritos imortais em evolução e que tudo é aprendido e crescimento. Em especial, agradeço a Isabely Lustosa, a Fernanda Ramalho e a Maria Ramalho por estarem ajudando-me a sustentar e a coordenar o trabalho de Evangelização Espírita.

Ao grupo de pesquisa em Produtos Naturais, Nanotecnológicos, Biotecnológicos com Potencial Antimicrobiano – PNNBPA – UFPE, por todo auxílio, pela amizade e por todos os momentos bons e ruins que compartilhamos no momento dos experimentos, e pela oportunidade de aprendizado e troca de conhecimentos.

Ao Laboratório de Microbiologia e Imunologia da UFPE – CAV em nome da Profa. Dra. Isabella Macário, Profa. Dra. Idjane Oliveira, Profa. Dra. Ana Lisa, Prof. Dr. Fábio Marcel, pelo acolhimento, pela oportunidade de realização dos experimentos, pelos ensinamentos e principalmente pelo carinho e amizade estabelecida durante o convívio.

A Universidade Federal de Pernambuco, em especial ao Centro Acadêmico de Vitória, e a todos os professores que contribuíram para minha formação profissional e pessoal, pela mediação e oportunidade de construção dos conhecimentos.

Por fim, a todos que puderam contribuir para que eu conseguisse alcançar essa vitória. Afirmo que este é o término de uma fase, e começo de uma nova fase em minha carreira acadêmica.

“Dificuldades e obstáculos são fontes valiosas de saúde e força para qualquer sociedade”

(Albert Einstein)

RESUMO

O surgimento de cepas bacterianas resistentes é um problema alarmante para saúde da população mundial. *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) está envolvido em infecções nosocomiais, tornando-se um problema de saúde pública devido a sua frequência, morbidade e mortalidade. Com o problema da multirresistência aos antimicrobianos, a comunidade científica avalia o potencial terapêutico dos metabólitos secundários oriundos dos vegetais com a finalidade de encontrar novas moléculas que tenham ação antimicrobiana ou que interajam com os fármacos melhorando o seu efeito. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar a interação *in vitro* entre extratos de plantas do Cerrado e fármacos comerciais frente a isolados clínicos de MRSA. Inicialmente, foram coletadas a casca e as folhas de algumas plantas do Bioma Cerrado, em seguida as partes vegetais foram secas, pulverizadas e padronizadas em tamises. Para obtenção do extrato seco as amostras sofreram maceração em etanol, posteriormente houve a filtração e evaporação sobre pressão reduzida. A avaliação da interação *in vitro* entre os extratos e os fármacos comerciais (ciprofloxacina, levofloxacina e eritromicina) foi realizada pelo método Checkerboard. Os resultados obtidos demonstram a interação *in vitro* entre todos os extratos e fármacos comerciais, sendo a interação do tipo aditiva para ciprofloxacina (FICI = 0,52 e 1) e levofloxacina (FICI = 0,50 e 0,52) e interação sinérgica para eritromicina (FICI = 0,19, 0,27 e 0,38). Portanto, os extratos das plantas do Cerrado revelam um potencial terapêutico como agentes moduladores da ação dos fármacos comerciais, com a possibilidade de, no futuro, serem utilizados em combinação com fármacos comerciais para o tratamento de infecções provocadas por micro-organismos com perfil de resistência, especialmente o MRSA.

Palavras-chave: Extrato de Plantas. Atividade Antibacteriana. Interação. *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA).

ABSTRACT

The emergence of resistant bacterial strains is an alarming problem for the health of the world's population. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is involved in nosocomial infections, making it a public health problem because of its frequency, morbidity and mortality. Due to the problem of multidrug resistance to antimicrobial agents, the scientific community analyze therapeutic potential of secondary metabolites derived from plants in order to find new molecules with antimicrobial activity or that interact with agents enhancing their effect. Thus, the aim of this study was to evaluate the *in vitro* interaction between extracts Cerrado plants and antimicrobial agents against MRSA clinical isolates. Initially, the bark and leaves of some plants of the Cerrado were collected, then the plant parts were dried, pulverized and standardized in sieves. To obtain a dry extract the samples were macerated in ethanol and then filtered and evaporated under reduced pressure. The evaluation of the *in vitro* interaction between the extracts and the antimicrobial agents (ciprofloxacin, levofloxacin and erythromycin) was conducted by the Checkerboard method. The results demonstrated the *in vitro* interaction between all antimicrobial agents with the extracts, with an additive interact for ciprofloxacin (FICI = 0.52 and 1) and levofloxacin (FICI = 0.50 and 0.52) and synergistic interaction for erythromycin (FICI = 0.19, 0.27 and 0.38). Therefore, the Cerrado plants extracts showed therapeutic potential as modulators of the antimicrobial agents actions with the possibility in the future to be used in combination with these drugs for treating infections caused by micro-organisms with resistance profile, particularly MRSA.

Keywords: Plants Extracts. Antibacterial Activity. Interaction. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mecanismos de resistência bacteriana.....	18
Figura 2 – <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina (MRSA).....	21
Figura 3 – Área ocupada pelo Bioma Cerrado no Brasil.....	24
Figura 4 – Fórmula para o cálculo da concentração inibitória fracionada (FICI).....	30

LISTA DE ABREVIações

μg	Microgramas
μL	Microlitro
μm	Micrometro
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
ATCC	American Type Culture Collection
CA-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina associado à comunidade
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CIP	Ciprofloxacina
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMH	Caldo Müller – Hinton
ERI	Eritromicina
ESBL	Beta lactamases de espectro estendido
FICI	Índice da concentração inibitória fracionada
Km^2	Quilômetros Quadrado
LEV	Levofloxacina
LMB	Laboratório de Microbiologia
MDR	Multidrogarresistentes
Mg	Miligramas
mL	Mililitros
Mm	Milímetro

MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
PBP	Penicillin Binding Protein (Proteína Ligadora de Penicilina)
SCCmec	Cassete Cromossômico Estafilocócicomec
SHHE	Sami-Hyanglyun-Hwan
UFC	Unidade Formadora de Colônia
VAN	Vancomicina
VRE	<i>Enterococcus</i> spp resistentes à vancomicina
VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à vancomicina

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Principais bactérias patogênicas associadas às infecções nosocomiais..... 20
- Tabela 2** – Classificação das interações baseada no índice da concentração inibitória fracionada e o efeito da Interação (FICI)..... 30
- Tabela 3** – Interação *in vitro* entre extratos de plantas do Cerrado com antibióticos fármacos comerciais (ciprofloxacina, levofloxacina e eritromicina) frente a isolados clínicos de MRSA..... 33

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 Resistência bacteriana.....	18
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à metilina – MRSA.....	21
2.3 Bioma Cerrado.....	23
2.4 Extratos de plantas como alternativa terapêutica.....	25
2.5 Interação entre extratos vegetais e fármacos comerciais.....	26
3 OBJETIVOS.....	28
3.1 Objetivo Geral.....	28
3.2 Objetivos Específicos.....	28
4 METODOLOGIA.....	29
4.1 Coleta do Material botânico e preparação dos extratos.....	29
4.2 Obtenção dos isolados clínicos.....	29
4.3 Avaliação da interação <i>in vitro</i> dos extratos de plantas do Cerrado e fármacos comerciais.....	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
6 CONCLUSÃO.....	39
REFERÊNCIAS.....	40

1 INTRODUÇÃO

Os micro-organismos estão desenvolvendo resistência a muitos antimicrobianos, devido principalmente ao uso indiscriminado desses medicamentos, de forma a aumentar os problemas clínicos no tratamento das doenças infecciosas. A resistência bacteriana é um problema de saúde pública mundial crescente, além de constituir um dos maiores obstáculos para o sucesso do tratamento das infecções bacterianas, pois limita os agentes antimicrobianos disponíveis para este tratamento (OLIVEIRA et al., 2008; OTEO; ARACIL, 2015). Muitas dessas bactérias resistentes estão envolvidas em infecções nosocomiais, essas infecções são consideradas comuns e problemáticas devido a sua frequência, morbidade e mortalidade (KOLLEF, 2008).

Staphylococcus aureus resistente à meticilina (MRSA) é uma das bactérias que estão envolvidas em infecções nosocomiais e vem apresentando resistência a muitos agentes antimicrobianos comumente utilizados (EFSA; ECDC, 2014). A frequência das infecções ocasionadas por MRSA tem apresentado crescimento contínuo em ambientes hospitalares a nível mundial (COHEN et al., 2008; ECDC, 2011). Além disso, o MRSA deixou de ser um problema exclusivo associado ao ambiente hospitalar e está tornando-se um problema emergente na comunidade (GELATTI, 2009; TRAVERSA et al., 2015).

Para o tratamento das infecções causadas por MRSA, o antimicrobiano de escolha é a vancomicina, entretanto, algumas pesquisas mostram o surgimento de cepas bacterianas de MRSA resistentes a este fármaco (TENOVER; MOELLERING, 2009).

Assim, a busca de plantas e seus derivados com fins terapêuticos está crescendo nos últimos anos em todo o mundo, principalmente com o problema da resistência bacteriana. Nesse sentido, diversas pesquisas estão sendo realizadas com o objetivo de encontrar e avaliar novas atividades biológicas provenientes da biodiversidade vegetal (SCHENKEL et al., 2003; LIMA et al., 2006; NEWMAN; CRAGG, 2007). As plantas produzem metabólitos secundários que podem ter bioatividades e valor medicinal, como antimicrobianos, antitumorais, antitrombóticos, anti-hiperlipidêmicos, dentre outros (HAIDA et al., 2007; CHUNG; NAVARATNAM; CHUNG, 2011; MAZID; KHAN; MOHAMMAD, 2011). Neste contexto, o Cerrado

surge como fonte de novos compostos com atividade biológica ou que sirvam como modelos para novas moléculas (RODRIGUES; CARVAHO, 2001; SRINIVASAN, 2001; NETO; MORAIS, 2003).

O Cerrado é um bioma que tem sua localização na região central do Brasil, sendo o segundo maior bioma brasileiro, chegando a comportar uma área de dois milhões de km². Relacionando em porcentagem com a área do país, equivale a 23% da área do Brasil (RATTER; RIBEIRO; BRIDGEWATER, 1997). Esse bioma agrupa uma biodiversidade rica e endêmica. Os constituintes florísticos desse bioma são amplamente utilizados pela população no tratamento de doenças (SANTOS, 2009).

Desse modo, os testes *in vitro* de avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de plantas podem servir como um guia para selecionar aqueles extratos com atividade significativa como recursos potenciais para esses novos fármacos e, portanto, como candidatos promissores para futuras pesquisas fitoquímicas e farmacológicas (VIOLANTE et al., 2012).

Adicionalmente, a comunidade científica está realizando pesquisas para análise da interação entre extratos oriundos de espécies vegetais e fármacos comerciais. Extratos de diversas plantas têm apresentado propriedades antibacterianas, além de apresentarem a capacidade de interferir positivamente na atividade antibacteriana de outros agentes. Essas interações podem ampliar o espectro antimicrobiano, além de evitar o aparecimento de resistência bacteriana e minimizar a toxicidade dos medicamentos (CHANDRA; RAKHOLIYA, 2011). Tornando uma alternativa para o tratamento de infecções causadas por bactérias multirresistentes que apresentam uma terapia limitada e dispendiosa (CELENZA et al., 2012).

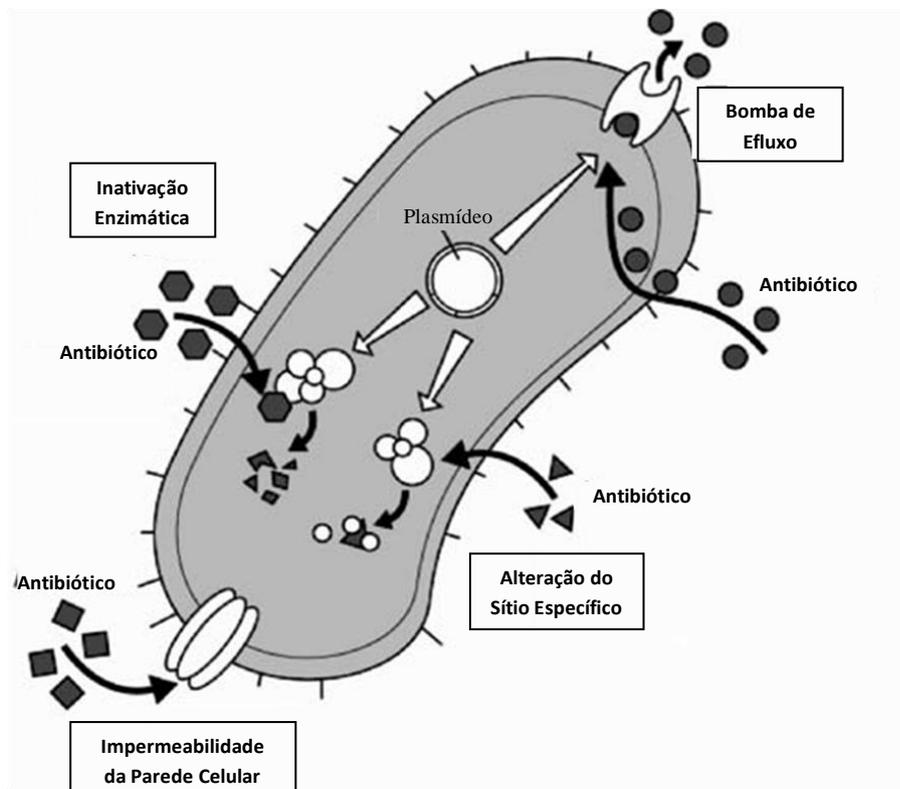
Nesse sentido, o presente trabalho avaliou a interação antimicrobiana *in vitro* entre extratos de plantas do cerrado e fármacos comerciais frente a isolados clínicos de MRSA.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Resistência bacteriana

As bactérias são organismos unicelulares, procariotos e pertencem ao Reino Monera. Elas possuem a capacidade de provocar infecções e alguns agentes antimicrobianos são utilizados para eliminá-las e exterminar o processo infeccioso. No entanto, esses seres microscópicos podem adquirir resistência aos agentes antimicrobianos devido às alterações genéticas que podem ser originadas das mutações cromossômicas ou pela aquisição de plasmídeos de resistência (BLAIR et al., 2015). Como mecanismos de resistência esses micro-organismos podem impedir a ação dos antibióticos (Figura 1), a) bloqueando a entrada do antibiótico; b) inativando o antibiótico por ação enzimática; c) modificando as moléculas alvo, impossibilitando que o antibiótico atue no seu sítio específico e d) por efluxo do antibiótico, de modo que impede a alta concentração e tempo de ação do antibiótico (GIEDRAITIENĖ et al., 2011).

Figura 1 – Mecanismos de resistência bacteriana.



Fonte: MORENO, C.; GONZÁLEZ, R.; BELTRÁN, C. 2009, p. 186.

Nos últimos anos, a resistência antimicrobiana constitui um problema grave, uma vez que o aumento da resistência aos antibióticos nas principais bactérias patogênicas aos humanos põe em risco a saúde da população (ECDC/EMEA, 2009). A multirresistência bacteriana é encontrada em gêneros e espécies como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella enterica*, *Shigella dysenteriae*, *Haemophilus influenzae*, *Stenotrophomonas* spp. e *Burkholderia* spp., estando elas envolvidas em muitas infecções nosocomiais (tabela 1) (ALEKSHUN; LEVY, 2007; DŽIDIC; ŠUŠKOVIC; KOS, 2008). O tratamento das infecções causadas por bactérias multirresistentes torna-se mais difícil, apresentando pior prognóstico, maior morbidade e mortalidade comparada às infecções provocadas por bactérias sensíveis aos antibióticos (TUMBARELLO, 2007).

Além disso, as bactérias multirresistentes têm alta capacidade de disseminação intra e extra-hospitalar (GLASNER et al., 2013; OTEO et al., 2013). O custo financeiro aplicado às terapias fracassadas devido aos micro-organismos resistentes é muito alto, onerando de forma mais intensa os sistemas públicos de saúde (DEL FIOLE et al., 2010). Por esses motivos, a resistência bacteriana é um grande problema para saúde pública (PESAVENTO, 2007). Sendo a contenção desse problema uma prioridade nos sistemas de saúde pública, reconhecida pelas principais instituições nacionais e internacionais (WHO, 2001; OTEO; ARACIL, 2015).

Um fato importante é que, há algumas décadas, as bactérias de importância clínica são caracterizadas não apenas pela resistência a um único fármaco, mas, também, pela resistência a múltiplos antibióticos, sendo denominadas multidrogarresistentes – MDR (EMORI et al., 1993; GIEDRAITIENĖ et al., 2011).

Algumas medidas podem acelerar esse processo de seleção, nesse sentido percebeu-se que o uso indiscriminado dos medicamentos (OLIVEIRA et al., 2008), assim como o uso profilático ou a prescrição de terapia antimicrobiana prolongada pode resultar no aumento de cepas multirresistentes em hospitais (GIEDRAITIENĖ et al., 2011).

Tabela 1 – Principais bactérias patogênicas associadas a infecções nosocomiais.

Patógeno	Sítios comuns de isolamento do patógeno
Bactérias Gram-negativas	
<i>Escherichia coli</i>	Sistema urinário, feridas cirúrgicas, sangue.
<i>Pseudomonas sp.</i>	Sistema urinário, sistema respiratório, queimaduras.
<i>Klebsiella sp.</i>	Sistema urinário, sistema respiratório, feridas cirúrgicas.
<i>Proteus sp.</i>	Sistema urinário, feridas cirúrgicas.
<i>Enterobacter sp.</i>	Sistema urinário, sistema respiratório, feridas cirúrgicas.
<i>Serratia sp.</i>	Sistema urinário, sistema respiratório, feridas cirúrgicas.
Bactérias Gram-positivas	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pele, feridas cirúrgicas, sangue.
<i>Staphylococcus epidermitis</i>	Pele, feridas cirúrgicas, sangue.
<i>Streptococcus sp.</i>	Sistema urinário, sistema respiratório, feridas cirúrgicas.

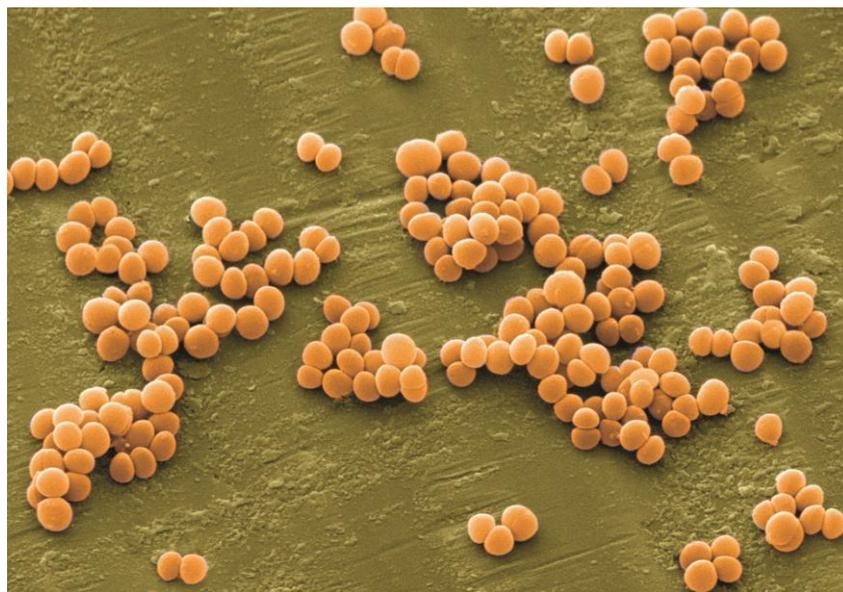
Fonte: RESENDE, 2010.

Nota: Tabela organizada pelo autor com base nos dados informados por RESENDE, 2010.

2.2 *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina – MRSA

Staphylococcus aureus resistente a meticilina (figura 2) é uma bactéria que possui forma esférica, são cocos, com cerca de 1µm de diâmetro, gram-positivos, catalase positivos, anaeróbios facultativos que formam arranjos semelhantes a "cachos de uva" (HUBER; HUBER, 1989). O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Micrococcae*, juntamente com os gêneros *Planococcus*, *Micrococcus* e *Stomatococcus* (GIAMMARINARO et al., 2005). Atualmente, o gênero *Staphylococcus* possui 49 espécies e 26 subespécies (EUZÉBY, 2014). *S. aureus* é um micro-organismo que coloniza a pele de seres humanos fazendo parte da microbiota normal. Embora, seja principalmente um colonizador inofensivo, *S. aureus* pode causar infecções graves em seres humanos, estando muito envolvido em infecções nosocomiais (ECDC, 2011; WEIDENMAIER; GOERKE; WOLZ, 2012).

Figura 2 – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA).



Fonte: BIOQUEEL, [2015].

Desde a descoberta da penicilina por Flemming, este medicamento foi utilizado para combater esse micro-organismo e eliminar o processo infeccioso. Entretanto, com o passar dos anos *S. aureus* tornou-se resistente a esse antibiótico, sendo assim a penicilina substituída pelo primeiro medicamento semissintético produzido, a meticilina, pertencente também ao grupo dos beta-lactâmicos. Contudo, com o tempo algumas cepas foram adquirindo resistência a meticilina, e então esse

grupo resistente foi denominado de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina – MRSA, sendo resistentes a todos os antimicrobianos beta-lactâmicos (LOW, 1998; DŽIDIC; ŠUŠKOVIC; KOS, 2008).

Neste cenário, foi descoberto o mecanismo de resistência a metilina que está relacionado ao desenvolvimento de uma PBP (Penicillin binding Protein) adicional, a PBP2a, que é funcional, normalmente não possuindo afinidade por antimicrobianos beta-lactâmicos (GELATTI, 2009). A PBP2a é codificada pelo gene *mecA*, que é carregado em um elemento genético móvel chamado de Cassete Cromossômico Estafilocócico *mec* (SCC*mec*) (CERVANTES-GARCÍA; GARCÍA-GONZÁLEZ; SALAZAR-SCHETTINO, 2014). Este patógeno também vem desenvolvendo outras estratégias para resistir à ação de diversos agentes antimicrobianos, como por exemplo, a produção das bombas de efluxo. Estes mecanismos foram identificados como um dos principais contribuintes para resistência de *Staphylococcus aureus* aos antimicrobianos (JOHARI et al., 2012).

Há décadas, as infecções causadas por MRSA têm aumentado nos hospitais (BOYCE, 1992; SANTOS et al., 1999; FERREIRA et al., 2013; FRAM et al., 2013). Na atualidade, MRSA é a causa mais importante de infecções nosocomiais resistentes aos antibióticos em todo o mundo (ECDC, 2011; CHEN et al., 2015). O aumento da prevalência de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina representa um problema sério para os pacientes internados e os seus cuidadores (COOMBS et al., 2011), uma vez que as infecções causadas por MRSA apresentam morbidade elevadas, resultam em internação prolongada e em taxas de mortalidade elevadas, devido ao aumento da toxicidade e eficácia limitada de tratamentos alternativos (ECDC, 2011). O tratamento tornou-se cada vez mais difícil devido ao desenvolvimento de resistência a muitos agentes antimicrobianos comumente utilizados (EFSA; ECDC, 2014).

MRSA está muito relacionado às infecções nosocomiais, contudo, as infecções causadas por esta bactéria deixaram de ser um problema exclusivo associado ao ambiente hospitalar e está tornando-se um problema emergente na comunidade (GELATTI, 2009). Além de infecções por MRSA adquiridas no hospital, infecções comunitárias causadas por uma variação do MRSA (Community-

associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* – CA-MRSA) tornaram-se um problema crescente de saúde pública (DELEO et al., 2011).

Para o tratamento das infecções por MRSA o antimicrobiano de escolha é a vancomicina (OLIVEIRA et al., 2000). A vancomicina é um glicopeptídeo que foi lançado pela primeira vez em 1958, e durante décadas, tem sido o pilar do tratamento para infecções por MRSA (HOWDEN, 2010). O aumento da incidência de MRSA tem levado ao uso extensivo deste antibiótico, de modo que esse uso extensivo é uma das prováveis causas do surgimento de cepas de MRSA com resistência a vancomicina (SUJATHA, 2012).

Dessa forma, o problema da resistência de algumas cepas bacterianas promove a procura de novos agentes antimicrobianos naturais produzidos por outros organismos, como as plantas (MULAUDZI et al., 2011; BOULEKBACHE-MAKHLOUF et al., 2013).

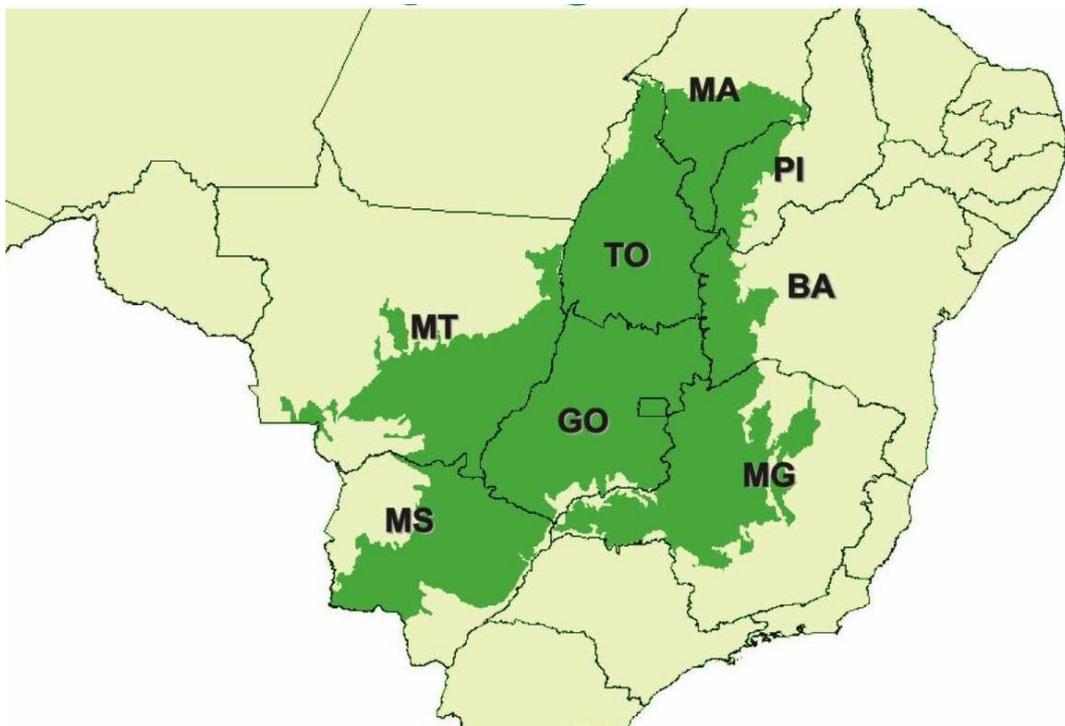
2.3 Bioma Cerrado

O Cerrado é o segundo maior bioma do Brasil, localizado na parte central do país (Figura 3), abrangendo cerca de dois milhões de km², 23% da área do país, estando presente nos Estados de Goiás, Tocantins, Mato Grosso do Sul, sul do Mato Grosso, oeste de Minas Gerais, Distrito Federal, oeste da Bahia, sul do Maranhão, oeste do Piauí e porções do Estado de São Paulo (RATTER; RIBEIRO; BRIDGEWATER, 1997; RIBEIRO; WALTER, 2008). O clima predominante neste bioma é o tropical sazonal de inverno seco, a temperatura medial fica em torno de 22 a 23°C, anualmente. Em geral a precipitação anual compreende a faixa de 1.200 a 1.800mm (KLEIN, 2002).

O Cerrado é um mosaico de várias fitofisionomias caracterizadas por estruturas de uma vegetação peculiar, principalmente quando consideramos como base o grau de cobertura arbórea (RIBEIRO; WALTER, 2008). Ele é considerado como uma vasta savana tropical caracterizada por uma biota rica e ameaçada (NOGUEIRA et al., 2011), com elevada diversidade endêmica, principalmente em relação à flora (MARINHO-FILHO et al., 2010; GUARNIZO, 2016).

A vegetação do Cerrado inclui uma grande diversidade biológica de flora (SANO et al., 2008), assim como grande diversidade de animais e fungos. Estima-se que haja 160.000 espécies compondo a fauna e flora no Cerrado (DIAS, 1992; BRASIL, 2002). O Cerrado brasileiro possui 35% de plantas endêmicas, porém poucas espécies foram estudadas quimicamente, indicando o seu potencial na descoberta ou desenvolvimento de novos medicamentos (MYERS et al., 2000; SOLÓRZANO et al., 2012).

Figura 3 – Área ocupada pelo Bioma Cerrado no Brasil.



Fonte: SILVA; BERSEL, [2015].

A alta diversidade de ambientes reflete numa elevada riqueza de espécies totalizando 12.356 espécies que ocorrem espontaneamente e uma flora vascular nativa somando 11.627 espécies (MENDONÇA et al., 2008), onde aproximadamente 44% da composição florística desse ambiente é endêmica (KLINK; MACHADO, 2005), tornando-o a savana tropical mais rica do mundo. As plantas são amplamente utilizadas na medicina popular, tendo papel importante para as populações humanas, uma vez que eles utilizam essas plantas para tratamento de doenças que acometem os sistemas digestório e respiratório (SANTOS, 2009).

Dessa forma, percebe-se o potencial medicinal das plantas deste bioma, bem como novos conhecimentos, novas descobertas e desenvolvimento de novas substâncias com atividade terapêutica ou com aplicações tanto na tecnologia farmacêutica quanto no desenvolvimento de fitoterápicos eficazes (SCHENKEL et al., 2003).

2.4 Extratos de plantas como alternativa terapêutica

O potencial de cura que as plantas possuem é percebido desde a antiguidade e as propriedades medicinais são atribuídas às substâncias bioativas que estão presentes nesses organismos. As plantas produzem uma série de compostos que não são de particular importância para o metabolismo primário, esses compostos podem ter um efeito nocivo a outros organismos, constituindo uma forma de defesa contra a predação (STEFANOVIĆ; COMIC, 2012).

Essas substâncias geralmente são os metabólitos secundários, característicos de certas espécies de plantas que ocorrem como parte do seu metabolismo normal com pouca ou nenhuma função no ciclo de vida da planta. No entanto, esses metabólitos podem ter bioatividades e valor medicinal, como antimicrobianos, antitumorais, antitrombóticos e anti-hiperlipidêmicos (MAZID; KHAN; MOHAMMAD, 2011). A triagem de metabólitos secundários, proveniente de micro-organismos, algas e plantas superiores está fornecendo diversos compostos bioativos com diferentes atividades farmacológicas, incluindo antimicrobianos (CHUNG; NAVARATNAM; CHUNG, 2011).

Com o problema da resistência bacteriana associada à utilização de antibióticos, o interesse em plantas com propriedades antimicrobianas cresceu fortemente (AHMAD; MEHMOOD; MOHAMMAD, 1998; SARAIVA et al., 2013). Diversas pesquisas estão sendo realizadas com o objetivo de encontrar e avaliar novas propriedades biológicas provenientes da biodiversidade vegetal (LIMA et al., 2006). Essas novas moléculas podem apresentar atividade antimicrobiana ou podem ainda funcionar como molde para a síntese de novos fármacos antimicrobianos (PRETORIUS; MAGAMA; ZIETSMAN, 2003; MOREILLION; QUE; GLAUSER, 2005).

2.5 Interação entre extratos vegetais e fármacos comerciais

Na atualidade, muitos estudos estão sendo realizados com a interação entre extratos oriundos de espécies vegetais e fármacos comerciais. Extratos de diversas plantas têm apresentado propriedades antibacterianas, além de apresentarem a capacidade de interferir na atividade antibacteriana e uma forte tendência na potencialização de antimicrobianos. Assim, essas interações podem ampliar o espectro antimicrobiano, além de evitar o aparecimento de resistência bacteriana e minimizar a toxicidade dos medicamentos (CHANDRA; RAKHOLIYA, 2011), tornando-se uma alternativa para o tratamento de infecções causadas por bactérias multirresistentes, uma vez que essas bactérias apresentam uma terapia limitada e dispendiosa (CELENZA et al., 2012).

Diversos agentes antimicrobianos oriundos das plantas podem ser menos potentes que os fármacos, reforçando assim a necessidade de avaliar a possível interação antimicrobiana entre os compostos bioativos para combater infecções. Com base nesse conhecimento, pesquisas estão sendo realizadas utilizando extratos vegetais brutos associados aos agentes antimicrobianos comerciais. Estas combinações podem melhorar a eficácia dos agentes antimicrobianos comerciais e constituem uma alternativa para o tratamento de infecções causadas por micro-organismos resistentes a múltiplos fármacos (HEMAISWARYA; KRUTHIVENTI; DOBLE, 2008).

O uso de fitoquímicos torna-se interessante, uma vez que diferentemente dos antimicrobianos sintéticos, os fitoquímicos podem apresentar menores efeitos colaterais e possuem um grande potencial terapêutico para diversas doenças infecciosas (HABBAL et al., 2011). Dessa forma, o uso de combinações de medicamentos antimicrobianos com extratos de plantas, onde o extrato potencializa a ação do fármaco, torna-se cada vez mais importante em aplicações de ordem clínica, além de evitar o surgimento e generalização de infecções com patógenos multirresistentes (SOPIRALA et al., 2010).

As pesquisas demonstram que a interação entre antimicrobianos comerciais e extratos de plantas é eficaz. Embora diversos compostos não possuam uma atividade antibacteriana significativa, eles podem ser intensificadores dos efeitos dos antibióticos através do sinergismo, mesmo que eles não possuam qualquer

propriedade antibacteriana quando testados sozinhos (ABREU; MCBAIN; SIMÕES, 2012). Torna-se importante ressaltar, que o custo do desenvolvimento de um novo agente antimicrobiano é muito maior quando comparado ao custo de encontrar uma combinação entre fármacos e extratos, sendo este um fator que também justifica a pesquisa de fármacos que tenham efeito potencializador dos medicamentos (LAMBERT et al., 2003).

Assim, a terapia de combinação de fármacos é uma alternativa mais eficaz para o tratamento de infecções provocadas por micro-organismos resistentes ou até mesmo para evitar o aparecimento de resistência bacteriana (DRAGO et al., 2007; MCCONEGHY et al., 2013).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a interação *in vitro* entre extratos de plantas do Cerrado e fármacos comerciais frente a isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina.

3.2 Objetivos Específicos

- Obter os isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina;
- Obter os extratos de plantas do Cerrado;
- Avaliar a interação *in vitro* entre extratos de plantas do Cerrado e fármacos comerciais (ciprofloxacina, levofloxacina e eritromicina) frente a isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina.

4 METODOLOGIA

4.1 Coleta do material botânico e preparação dos extratos

A coleta do material botânico (casca e folha da Planta A e folha da Planta B) para a preparação das exsiccatas e produção dos extratos foram realizadas no período de abril de 2012 cidade de Palmas, Estado de Tocantins (10°10'58.45" S e 48°17'33.75" O), sob a responsabilidade de membros do Laboratório de Etnobotânica Aplicada (LEA-UFRPE) e do Laboratório de Produtos Naturais (LAPRONAT - UFPE). As partes vegetais coletadas no bioma Cerrado foram secas em estufa com circulação de ar e temperatura média de 40 ± 2 °C. Em seguida foram pulverizadas em moinho vertical de facas tipo Willye e padronizadas em tamises, obtendo-se granulometria de 1 mm (16 Mesh). Os extratos foram preparados por maceração com etanol por 24 horas, na proporção de 1:20 (p/v). Após a maceração, o material foi filtrado em papel-filtro e evaporado sob pressão reduzida à temperatura de 40 ± 2 °C até a produção de um extrato seco (ARAUJO et al., 2012).

4.2 Obtenção dos isolados clínicos

Os isolados clínicos bacterianos com perfil de resistência utilizadas nesta pesquisa foram gentilmente fornecidos pelo Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco através de uma colaboração já estabelecida. Os isolados clínicos recebidos foram submetidos a testes para confirmação da espécie das cepas (*Staphylococcus aureus*) através da coloração de Gram, do semeio em Ágar Sangue e em Manitol, e teste da catalase e coagulase, assim como o perfil de resistência foi comprovado através do teste de disco-difusão.

4.3 Avaliação da interação *in vitro* dos extratos de plantas do Cerrado e fármacos comerciais

A interação antimicrobiana entre os extratos e os fármacos padrões foi avaliada através do método Checkerboard (AN et al., 2011). Diluições pré-definidas

dos extratos, assim como dos fármacos padrões foram realizadas e 100µL de cada mistura foi adicionada em placas de 96 poços obtendo uma concentração final igual à Concentração Inibitória Mínima – CIM, dos extratos e dos fármacos padrões. Cada poço recebeu 5µL de suspensão microbiana e as placas foram incubadas e após 24h foi observado o valor de CIM dos extratos combinados com os fármacos. O cálculo do valor de FICI - índice da concentração inibitória fracionada (figura 4) foi realizado pela fórmula: (CIM da molécula em combinação com fármaco padrão/ CIM da molécula) + (CIM fármaco padrão em combinação com a molécula/ CIM do fármaco padrão). A combinação foi considerada sinérgica, aditiva, indiferente e antagônica conforme as informações na (Tabela 2) (AN et al., 2011).

Figura 4 – Fórmula para o cálculo do valor da concentração inibitória fracionada (FICI).

$$\sum FIC = FIC_A + FIC_B = CMI_{AB}/CMI_A + CMI_{BA}/CMI_B$$

Fonte: AN et al., 2011.

Tabela 2 – Classificação das interações baseada no índice da concentração inibitória fracionada (FICI).

Índice Da Concentração Inibitória Fracionada	
Valor de FICI	Efeito da Interação
<0,5	Sinérgica
0,5 ≤ FICI ≤ 1	Aditiva
1 < FICI < 2	Indiferente
FICI ≥ 2-4	Antagônica

Fonte: AN et al., 2011.

Nota: Tabela organizada pelo autor com base nos dados informados por AN et al., 2011.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Staphylococcus aureus é um patógeno reconhecido há muito tempo por ser capaz de desenvolver resistência aos fármacos, prolongando o tempo de tratamento do paciente, aumentando a taxa de morbidade e mortalidade e os custos financeiros associados à manutenção e tratamento do paciente nos hospitais (PANTOSTI, 2012). Essa bactéria é um dos patógenos mais importantes em infecções hospitalares, havendo grande interesse em estudos relacionados à avaliação da atividade antibacteriana de novos compostos oriundos de espécies vegetais. Associado ao problema das infecções hospitalares, esse micro-organismo possui a alta capacidade no desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos (FARIA et al., 2005). Nos dias atuais, MRSA é a causa mais importante de infecções nosocomiais resistentes aos antimicrobianos a nível mundial. As infecções provocadas por este patógeno vêm aumentando nos hospitais ao longo dos anos e esse aumento representa um problema sério para os pacientes internados, debilitados e seus prestadores de cuidados (COOMBS et al., 2011; FERREIRA et al., 2013; CHEN et al., 2015). Os pesquisadores buscam novas opções terapêuticas para o tratamento destas infecções.

Nesse sentido, a descoberta de plantas com ação antibacteriana torna-se um dos primeiros passos na procura de novas moléculas bioativas com atividade antimicrobiana (GARCIA et al., 2011). A tradição do uso de plantas medicinais para cura de doenças necessita de mais estudos para obtenção de fundamentos científicos para a comprovação de sua eficácia (CHAH et al., 2006), uma vez que muitas plantas medicinais demonstram o potencial para o desenvolvimento de novos antimicrobianos sejam sozinhas ou na potencialização de outros antimicrobianos usados na clínica (DESOTI et al., 2011).

Assim, a terapia que associa medicamentos antimicrobianos com extratos *in vitro* torna-se cada vez mais importante em aplicações na terapêutica clínica. Portanto, a combinação de fármacos torna-se uma alternativa mais eficaz no tratamento de infecções provocadas por bactérias multirresistentes, assim como, para evitar a resistência bacteriana (SOPIRALA et al., 2010; MCCONEGHY et al., 2013).

Nesse estudo foi possível verificar a existência de interação entre os extratos de plantas do Cerrado e fármacos comerciais. A interação foi sinérgica entre os extratos do Cerrado com eritromicina e a interação foi aditiva com ciprofloxacina e com levofloxacina.

Para a interação entre CIP e os extratos de plantas do Cerrado foi encontrado $FICI = 0,52$ e 1 , indicando para todos os extratos testados com CIP a interação aditiva (Tabela 3). Para a interação entre LEV e os extratos de plantas do Cerrado foi encontrado $FICI = 0,50$ e $0,52$, indicando para todos os extratos testados com LEV a interação aditiva (Tabela 3). Para a interação entre ERI e os extratos de plantas do Cerrado foi encontrado $FICI = 0,19$, $0,27$ e $0,38$, indicando para todos os extratos testados com ERI a interação sinérgica (Tabela 3).

Sabendo de todos esses benefícios proporcionados pela terapia da interação dos fármacos comerciais com os extratos vegetais, muitos estudos nos últimos anos estão sendo desenvolvidos. Amin et al. (2015) mostram a interação entre as moléculas presentes nos extratos vegetais com os fármacos comerciais resultam em potencialização da ação desses antibióticos assim como foi evidenciado em nossa pesquisa.

Fernandes et al. (2012) num estudo realizado com fármacos, incluindo ciprofloxacina, associada a extratos de *Psidium guineense* frente a isolados de MRSA demonstraram interação sinérgica ($FICI = 0,25$ e $0,50$), indicando esse extrato como forte potencializador da ação desses antimicrobianos. No nosso estudo também observamos uma interação positiva de CIP com os extratos do cerrado (interação aditiva).

Jang-Gi Choi et al. (2014) em suas pesquisas demonstraram que a combinação do extrato etanólico de Sami-Hyanglyun-Hwan (SHHE) (combinação de extratos das ervas *Coptidis rhizoma*, *Rhei rhizoma* e *Aucklandiae radix*) com ciprofloxacina foi sinérgica para MRSA ATCC 33591 ($FICI = 0,37$) e frente aos isolados clínicos de MRSA o efeito foi aditivo ($FICI = 0,51$ e $0,62$). Estando consoante com nosso estudo que encontrou interações aditivas para CIP e os extratos de plantas do Cerrado frente à MRSA. Sugerindo, dessa forma, que o bioma brasileiro apresenta plantas com potencial terapêutico, assim como, as plantas dos biomas de outros países.

Tabela 3 - Interação *in vitro* entre extratos de plantas do Cerrado com antibióticos fármacos comerciais (ciprofloxacina, levofloxacina e eritromicina) frente a isolados clínicos de MRSA.

Fármaco padrão + Extrato	Isolados	FICI	Interação	Fármaco padrão + Extrato	Isolados	FICI	Interação	Fármaco padrão + Extrato	Isolados	FICI	Interação
CIP + Extrato da Planta A (casca)	LMB 1	0,52	Aditiva	LEV + Extrato da Planta A (casca)	LMB 1	0,50	Aditiva	ERI + Extrato da Planta A (casca)	LMB 1	0,19	Sinérgica
	LMB 2	0,52	Aditiva		LMB 2	0,50	Aditiva		LMB 2	0,19	Sinérgica
	LMB 4	0,52	Aditiva		LMB 4	0,50	Aditiva		LMB 4	0,19	Sinérgica
	LMB 7	0,52	Aditiva		LMB 7	0,50	Aditiva		LMB 7	0,19	Sinérgica
	LMB 8	0,52	Aditiva		LMB 8	0,50	Aditiva		LMB 8	0,19	Sinérgica
CIP + Fração do Extrato da Planta A (casca)	LMB 1	0,52	Aditiva	LEV + Fração do Extrato da Planta A (casca)	LMB 1	0,52	Aditiva	ERI + Fração do Extrato da Planta A (casca)	LMB 1	0,27	Sinérgica
	LMB 2	0,52	Aditiva		LMB 2	0,52	Aditiva		LMB 2	0,27	Sinérgica
	LMB 4	0,52	Aditiva		LMB 4	0,52	Aditiva		LMB 4	0,27	Sinérgica
LMB 7	0,52	Aditiva	LMB 7	0,52	Aditiva	LMB 7	0,27	Sinérgica			

	LMB 8	0,52	Aditiva		LMB 8	0,52	Aditiva		LMB 8	0,27	Sinérgica
CIP + Extrato da Planta A (folha)	LMB 1	1	Aditiva	LEV +	LMB 1	0,50	Aditiva	ERI +	LMB 1	0,38	Sinérgica
	LMB 2	1	Aditiva	Extrato da Planta A	LMB 2	0,50	Aditiva	Extrato da Planta A	LMB 2	0,38	Sinérgica
	LMB 4	1	Aditiva	(folha)	LMB 4	0,50	Aditiva	(folha)	LMB 4	0,38	Sinérgica
	LMB 7	1	Aditiva		LMB 7	0,50	Aditiva		LMB 7	0,38	Sinérgica
	LMB 8	1	Aditiva		LMB 8	0,50	Aditiva		LMB 8	0,38	Sinérgica
CIP + Fração do Extrato da Planta A (folha)	LMB 1	1	Aditiva	LEV +	LMB 1	0,52	Aditiva	ERI +	LMB 1	0,27	Sinérgica
	LMB 2	1	Aditiva	Fração do Extrato da Planta A	LMB 2	0,52	Aditiva	Fração do Extrato da Planta A	LMB 2	0,27	Sinérgica
	LMB 4	1	Aditiva	(folha)	LMB 4	0,52	Aditiva	(folha)	LMB 4	0,27	Sinérgica
	LMB 7	1	Aditiva		LMB 7	0,52	Aditiva		LMB 7	0,27	Sinérgica
	LMB 8	1	Aditiva		LMB 8	0,52	Aditiva		LMB 8	0,27	Sinérgica

CIP + Extrato da Planta B (folha)	LMB 1	1	Aditiva	LEV + Extrato da Planta B (folha)	LMB 1	0,52	Aditiva	ERI + Extrato da Planta B (folha)	LMB 1	0,27	Sinérgica
	LMB 2	1	Aditiva		LMB 2	0,52	Aditiva		LMB 2	0,27	Sinérgica
	LMB 4	1	Aditiva		LMB 4	0,52	Aditiva		LMB 4	0,27	Sinérgica
	LMB 7	1	Aditiva		LMB 7	0,52	Aditiva		LMB 7	0,27	Sinérgica
	LMB 8	1	Aditiva		LMB 8	0,52	Aditiva		LMB 8	0,27	Sinérgica
CIP + Fração Extrato da Planta B (folha)	LMB 1	1	Aditiva	LEV + Fração Extrato da Planta B (folha)	LMB 1	0,52	Aditiva	ERI + Fração Extrato da Planta B (folha)	LMB 1	0,27	Sinérgica
	LMB 2	1	Aditiva		LMB 2	0,52	Aditiva		LMB 2	0,27	Sinérgica
	LMB 4	1	Aditiva		LMB 4	0,52	Aditiva		LMB 4	0,27	Sinérgica
	LMB 7	1	Aditiva		LMB 7	0,52	Aditiva		LMB 7	0,27	Sinérgica
	LMB 8	1	Aditiva		LMB 8	0,52	Aditiva		LMB 8	0,27	Sinérgica

Legenda: LMB = Laboratório de Microbiologia; CIP = Ciprofloxacina; LEV = Levofloxacina; ERI = Eritromicina.

Fonte: Campos, L. A. A., 2015.

Adikwu, Jackson e Esimone (2010) testaram a associação *in vitro* de ERI com o extrato de folhas de *Euphorbia hirta* frente a isolados clínicos de *S. aureus* sem perfil de resistência, sendo demonstrado efeito aditivo e indiferente (FICI = 0,55 a 1,5) diferentemente de nossa pesquisa, onde apenas foram obtidas interações sinérgicas, demonstrando assim que existe uma interação melhor de ERI com os extratos das plantas do Cerrado.

Em 2015, Santos et al. pesquisaram e perceberam que a associação entre extrato de *Indigoferas uffruticosa* com ERI frente a *S. aureus* sem perfil de resistência resultou em um efeito sinérgico (FICI = 0,2 a 0,4), aditivo (FICI = 0,5 a 0,9) e indiferente (FICI = 1,2 e 1,7), tendo uma maior proporção o efeito aditivo, seguido do efeito sinérgico e indiferente.

Pode-se afirmar que os extratos de plantas do Cerrado têm uma melhor capacidade potencializadora do efeito dos antimicrobianos comerciais quando comparado aos extratos utilizados por Adikwu, Jackson e Esimone (2010) e Santos et al. (2015), evidenciando a forte interação e modulação positiva da atividade antimicrobiana dos extratos de plantas do Cerrado com eritromicina para cepas de *Staphylococcus aureus*.

Oliveira et al. (2011) evidenciaram a atividade sinérgica da interação entre alguns antimicrobianos comerciais, incluindo a eritromicina, com o extrato etanólico de casca de *Mangifera indica* L. (planta do bioma Floresta Atlântica) frente a isolados clínicos de MRSA. A pesquisa demonstrou maior inibição desse micro-organismo quando adicionado ERI ao extrato, revelando resultado similar quando comparado a nossa pesquisa, evidenciando que o Bioma Cerrado tem um potencial terapêutico bom quando comparado a outros biomas, como o bioma Floresta Atlântica.

Silva et al. (2013) pesquisaram a interação *in vitro* existente entre extratos de *Anadenanthera colubrina*, *Libidibia ferrea*, *Pityrocarpa moniliformis*, plantas do bioma Caatinga, com ERI frente à *Staphylococcus aureus*, sem nenhum perfil de resistência, e foi observado para *Anadenanthera colubrina* efeito indiferente (FICI = 1,20 e 3,40), aditivo (FICI = 0,77 e 0,95) e sinérgico (FICI = 0,18 a 0,32). Para as interações com *Libidibia ferrea* foi observado efeito indiferente (FICI = 1,09 e 1,40), aditivo (FICI = 0,59 a 0,74) e sinérgico (FICI = 0,20 a 0,47). Nas interações com

Pityrocarpa moniliformis foi observado efeito indiferente (FICI = 1,25), aditivo (FICI = 0,50 e 0,97) e sinérgico (FICI = 0,20 a 0,46). Analisando os resultados das interações das plantas da Caatinga e comparando com os resultados das plantas do Cerrado combinadas a ERI percebemos que o bioma Cerrado possui uma melhor atividade como potencializadora dos efeitos desse fármaco. Sugerindo-nos que os vegetais do bioma Cerrado possuem um potencial terapêutico melhor que os vegetais do bioma Caatinga.

Garvey et al. (2011) estudaram a interação *in vitro* de CIP e de ERI com extratos de *Melissa officinalis* e *Levisticum officinale* frente à bactérias gram-negativas. O extrato de *L. officinale* com CIP demonstrou efeito sinérgico frente a essas bactérias enquanto que o extrato de *L. officinale* com ERI demonstrou efeito pouco sinérgico comparando ao fármaco sozinho. Com o extrato de *M. officinalis* com CIP foi observado efeito sinérgico e não foi observado nenhum efeito sinérgico com ERI. Atteiaa e Husseinb (2014) demonstraram através de estudos que os extratos aquosos de *Syzygium aromaticum*, *Commiphora molmol* e *Allium sativum* não tiveram um efeito sinérgico com LEV e ERI e nem efeito inibitório frente à *Klebsiella pneumoniae*. Com os extratos etanólicos das três espécies foi observado efeito sinérgico dos três extratos com LEV e ERI frente à *Klebsiella pneumoniae*. Sugerindo, dessa forma, que os fármacos testados neste estudo podem ser utilizados no tratamento de infecções para bactérias gram-negativas e gram-positivas.

Atteiaa e Husseinb (2014) em seus estudos revelaram que os extratos aquosos de *Syzygium aromaticum* e *Allium sativum* tiveram um efeito sinérgico com LEV e ERI, diferentemente *Commiphora molmol* demonstrou um efeito não sinérgico. Com os extratos etanólicos das três espécies foi observado efeito sinérgico com LEV e ERI frente à *Staphylococcus aureus*, consoante com nosso estudo, onde obtivemos apenas interações positivas para LEV e ERI. Demonstrando que ERI e LEV são fármacos indicados para o tratamento de infecções provocadas por bactérias gram-positivas, em especial *S. aureus*.

Olajuyigbe e Afolayan (2012) testaram a interação do extrato metanólico de *Acacia mearnsii* (planta do Bioma Floresta Atlântica) com diversos fármacos comerciais, incluindo eritromicina e ciprofloxacina frente a diferentes espécies

bacterianas. Frente a *S. aureus* (ATCC 6538), para ERI foi revelado efeito aditivo com FICI = 0,75, e para CIP com FICI = 4,5, efeito antagônico. Diferentemente do nosso estudo, ERI obteve efeito sinérgico e CIP obteve interação aditiva, revelando que o bioma Cerrado tem um melhor potencial para tratamento de infecções causadas por cepas de *S. aureus*.

Elbashit, Elmanama e Masad (2011) mostraram que houve um efeito sinérgico na interação do extrato bruto etanólico e das frações de extratos etanólicos da raiz e semente de *Cakile maritima*, extrato bruto de *Mesembryanthemum crystallinum*, do caule de *Marrubium vulgare*, das folhas de *Atriplex halimus* e de *Withania somnifera* (plantas de Portugal) com vários antibióticos, incluindo eritromicina frente à MRSA. As pesquisas estão consoantes com o nosso estudo, uma vez que também observamos interação sinérgica entre frações dos extratos com eritromicina frente à MRSA.

A atividade antimicrobiana de CIP, LEV e ERI é potencializada quando associados ao extrato bruto de plantas, bem como as frações de folha e casca. A combinação de extratos ou de frações das plantas com os fármacos é uma opção terapêutica para o tratamento de infecções por MRSA. Dessa forma, nossa pesquisa revelou as interações positivas entre os fármacos e os extratos testados, enfatizando a superioridade das plantas do Cerrado em interagir com os antimicrobianos comerciais potencializando seus efeitos.

6 CONCLUSÃO

Os isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina foram obtidos e seu perfil de resistência foi confirmado. Os extratos das cascas e folhas das plantas do cerrado foram obtidos. Nos resultados da avaliação da interação entre os extratos etanólico das plantas do cerrado e dos fármacos comerciais indicam que estes extratos possuem potencial terapêutico, pois são fortes potencializadores do efeito dos fármacos comerciais ciprofloxacina, levofloxacina e principalmente a eritromicina frente a isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina. Desse modo, este trabalho possui relevância para comunidade científica e para sociedade devido à possibilidade de desenvolvimento de novas opções terapêuticas para o tratamento de infecções causadas por MRSA uma vez que a terapia de combinação constitui uma opção em ascensão para o tratamento de infecções provocadas por bactérias resistentes a antimicrobianos, principalmente infecções causadas por MRSA. No entanto, mais pesquisas devem ser realizadas para analisar *in vivo* o efeito da terapia de combinação de extratos e fármacos comerciais.

REFERÊNCIAS

ABREU A. C.; MCBAIN A. J.; SIMÕES M. Plants as sources of new antimicrobials and resistance modifying agents. **Natural Product Reports**, London, v. 29, n. 9, p. 1007–1021, 2012.

ADIKWU, M.; JACKSON, C.; ESIMONE, C. Evaluation of in vitro antimicrobial effect of combinations of erythromycin and *Euphorbia hirta* leaf extract against *Staphylococcus aureus*. **Research in Pharmaceutical Biotechnology**, Lagos, v. 2, n. 2, p. 22-24, 2010.

AGUIAR, L. M. S.; MACHADO, R. B.; MARINHO-FILHO, J. A diversidade biológica do Cerrado. In: AGUIAR, L. M. S.; CAMARGO, A. J. A. In **Cerrado: ecologia e caracterização**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 2004. p. 19- 42.

AHMAD, I.; MEHMOOD, Z.; MOHAMMAD, F. Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobials properties. **Journal Ethnopharmacology**, Limerick, v. 62, n. 2, p. 183-393, 1998.

ALEKSHUN, M. N.; LEVY, S. B. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. **Cell**, Cambridge, v. 128, n. 6, p. 1037-1050, 2007.

AMIN, M. U. et al. Antibiotic additive and synergistic action of rutin, morin and quercetin against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 15, n. 59, p. 1-12, 2015.

AN, J. et al. Antibacterial and synergy of aflavononol rhamnoside with antibiotics against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Phytomedicine**, Stuttgart, v. 18, n. 11, p. 990–993, 2011.

ARAÚJO, T. A. S. et al. Habitat influence on antioxidant activity and tannin concentrations of *Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae). **Pharmaceutical Biology**, Lisse, v. 50, n. 6, p. 754–759, 2012.

ATTEIAA, H. G.; HUSSEINB, E. A. M. In vitro antibacterial and synergistic effects of some plant extracts against *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*. **Journal of Antimicrobials. Photon**, London, v. 129, n. 1, p. 338-346, 2014.

BIOQUEEL. **Community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CA-MRSA.** In.: BIOQUEEL - Microbiology. Inglaterra: [s.n], [2015]. Disponível em: <<http://www.bioquell.asia/technology/microbiology/community-associated-methicillin-resistant-staphylococcus-aureus-ca-mrsa/#sthash.oIYnDpXV.dpuf>>. Acesso em: 20 Novembro [2015].

BLAIR, J. M. A. et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 13, n. 1, p. 42-51, 2015.

BOULEKBACHE-MAKHLOUF, L.; SLIMANI, S.; MADANI, K. Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 41, n. 1, p. 85–89, 2013.

BOYCE, J. M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitals and long-term care facilities: microbiology, epidemiology, and preventive measures. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, New Jersey, v. 13, n. 12, p. 725-737, 1992.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. **Avaliação E Identificação De Áreas E Ações Prioritárias Para A Conservação, Utilização Sustentável E Repartição Dos Benefícios Da Biodiversidade Nos Biomas Brasileiros.** Brasília: MMA/SBF, 2002. 404 p.

CELENZA, G. et al. In vitro antimicrobial activity of pannarin alone and in combination with antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. **Phytomedicine**, Stuttgart, v. 19, n. 7, p. 596–602, 2012.

CERVANTES-GARCÍA, E.; GARCÍA-GONZÁLEZ, R.; SALAZAR-SCHETTINO, P. M. Características generales del *Staphylococcus aureus*. **Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio**, México, v. 61, n. 1, p. 28–40, 2014.

CHAH, K. F. et al. Antibacterial and wound healing properties of methanolic extracts of some Nigerian medicinal plants. **Journal Ethnopharmacology**, Limerick, v. 104, n. 1-2, p. 164–167, 2006.

CHANDA, S.; RAKHOLIYA, K. Combination therapy: Synergism between natural plant extracts and antibiotics against infectious diseases. **Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances**, Badajoz, v. 1, n. 13, p. 520-529, 2011.

CHEN, X. et al. Ethanol extract of *Sanguisorba officinalis* L. inhibits biofilm formation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an ica-dependent manner. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 98, n. 12, p. 8486-8491, 2015.

CHUNG, P. Y.; NAVARATNAM, P.; CHUNG, L. Y. Synergistic antimicrobial activity between pentacyclic triterpenoids and antibiotics against *Staphylococcus aureus* strains. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, London, v. 10, n. 25, p. 1-6, 2011.

COHEN, E.C. et al. Care of Children Isolated for Infection Control: A Prospective Observational Cohort Study. **Pediatrics**, Evanston, v. 122, n. 2, p. 411-115, 2008.

COOMBS, G. W. et al. Evolution and diversity of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a geographical region. **BMC Microbiology**, London, v. 11, n. 215, p. 1–12, 2011.

DEL FIOL, F.S. et al. Perfil de prescrições e uso de antibióticos em infecções comunitárias. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 43, n. 1, p. 68-72, 2010.

DELEO F. R. et al. Molecular differentiation of historic phage-type 80/81 and contemporary epidemic *Staphylococcus aureus*. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v. 108, n. 44, p. 18091–18096, 2011.

DESOTI, V. C. et al. Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, Umuarama, v. 15, n. 1, p. 3-13, 2011.

DIAS, B.F.S. Cerrados: Uma Caracterização. In: DIAS, B.F.S. (Coord.) **Alternativas de Desenvolvimento dos Cerrados: Manejo e Conservação dos Recursos Naturais Renováveis**. Brasília: FUNATURA, 1991. p. 303-333.

DRAGO L. et al. In vitro evaluation of antibiotics' combinations for empirical therapy of suspected methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* severe respiratory infections. **BMC Infectious Diseases**, London, v. 7, n.111, p. 1-7, 2007.

DŽIDIC, S.; ŠUŠKOVIC, J.; KOS, B. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects. **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v. 46, n. 1, p. 11-21., 2008.

ELBASHITI, T.A.; ELMANAMA, A.A.; MASAD, A.A. Antibacterial and synergistic effects of some Palestinian plant extract on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Functional Plant Science and Biotechnology**, Takamatsu, v. 5, n. 5, p. 57-62, 2011.

EMORI, T. G.; GAYNES, R. P. An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 6, n. 4, p. 428-342, 1993.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. Antimicrobial resistance in Europe - *Staphylococcus aureus*. In: **Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2010**: Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network. Stockholm: ECDC, p. 30-32, 2011.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL; EUROPEAN MEDICINES AGENCY. **The bacterial challenge**: time to react. Stockholm: ECDC, 2009.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. In: The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2012. **EFSA Journal**, Stockholm, v.12, n.3, p. 203-213, 2014.

EUZÉBY, J. P. **Genus *Staphylococcus***. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature Local [s.l]: [s.n] 2012. Disponível em: <http://www.bacterio.cict.fr/s/staphylococcus.html>. Acesso em: 09/12/2015.

FARIA, N. A. et al. Epidemiology of emerging methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Denmark: a nationwide study in a country with low prevalence of MRSA infection. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 43, n. 4, p. 1836–1842, 2005.

FERNANDES, T. G. et al. In vitro synergistic effect of *Psidium guineense* (Swartz) in combination with antimicrobial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Strains. **The Scientific World Journal**, New York, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2012.

FERREIRA, J. et al. Notificação de infecções em unidade neonatal com critérios nacionais. **Revista de Epidemiologia e Controle Infecção**, Santa Cruz do Sul, v. 3, n. 3, p. 75–81, 2013.

FRAM, D. et al. Perfil dos microrganismos isolados em hemoculturas de pacientes em hemodiálise. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 5, p.12, 2013.

GARCIA, L. M. et al. Perfil epidemiológico das infecções hospitalares por bactérias multidrogarresistentes em um hospital do norte de Minas Gerais. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, Santa Cruz do Sul, v. 3, n. 2, p. 45-49, 2013.

GARVEY, M. I. et al. Medicinal plant extracts with efflux inhibitory activity against Gram-negative Bacteria. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 37, n. 2, p. 145–151, 2011.

GELATTI, L. C. et al, *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, São Paulo, v. 84, n. 5, p. 501-506, 2009.

GIAMMARINARO, P. et al. Development of a new oligonucleotide array to identify *Staphylococcal* strains at species level. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 43, n. 8, p. 3673–3680, 2005.

GIEDRAITIENĖ, A. et al. Antibiotic Resistance Mechanisms of Clinically Important Bacteria. **Medicina (Kaunas)**, Kaunas, v. 47, n. 3, p. 137-146, 2011.

GLASNER, C. et al. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe: a survey among national experts from 39 countries, February 2013. **Eurosurveillance**, Saint-Maurice, v. 18, n. 28, p. 1-7, 2013.

GUARNIZO, C. E. et al. Cryptic lineages and diversification of an endemic anole lizard (Squamata, Dactyloidae) of the Cerrado hotspot. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, San Diego, v. 94, n.1, p. 279–289, 2016.

HABBAL, O. et al. Antibacterial activity of *Lawsonia inermis* linn (Henna) against *Pseudomonas aeruginosa*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, Hainan, v. 1, n. 3, p. 173-176, 2011.

HAIDA, K. S. et al. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, Umuarama v. 11, n. 3, p. 185-192, 2007.

HEMAISWARYA, S.; KRUTHIVENTI, A. K.; DOBLE, M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases, **Phytomedicine**, Stuttgart, v. 15, n. 8, p. 639–652, 2008.

HOWDEN, B. P. et al. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. **Clinical Microbiology Review**, Washington, v. 23, n. 1, p. 99–139, 2010.

HUBER, M. M.; HUBER, T. W. Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to lysostaphin. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 27, n. 5, p. 1122-1124, 1989.

JANG-GI, C. et al. Antimicrobial activity and synergism of Sami-Hyanglyun-Hwan with ciprofloxacin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, Hainan, v. 8, n. 7, p. 538–542, 2015.

JOHARI, S.A. et al. Efflux inhibitory activity of flavonoids from *Chromolaena odorata* against selected methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates. **African Journal of Microbiology Research**, Nigéria, v. 6, n. 27, p. 5631–5635, 2012.

KLEIN, A. L. **Eugenwarmin e o cerrado brasileiro in bioma do cerrado: um século depois**. São Paulo: Editora Unesp, 2002.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. Conservation of the Brazilian Cerrado. **Conservation Biology**, Cambridge, v. 19, n. 3, p. 707-713, 2005.

KOLLEF, M. Smart Approaches for Reducing Nosocomial Infections in the ICU. **Chest Journal**, Park Ridge, v. 134, n. 2, p. 447-456, 2008.

LAMBERT R. J. W. et al. Theory of antimicrobial combinations: biocide mixtures – synergy or addition? **Journal Applied Microbiology**, Oxford, v. 94, n. 4, p. 747–759, 2003.

LIMA, M. R. F. et al. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v.105, n. 1-2, p. 137-147, 2006.

LOWY, F. D. *Staphylococcus aureus* infections. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 339, n. 8, p. 520-532, 1998.

MARINHO-FILHO, J.; MACHADO, R. B.; HENRIQUES, R. P. B. Evolução do conhecimento e da conservação do Cerrado brasileiro. In: DINIZ, I. R.; MARINHO-FILHO, J.; MACHADO, R. B.; CAVALCANTI, R. B. (eds.). **Cerrado - conhecimento científico quantitativo como subsídio para ações de conservação**. Brasília, Editora UnB, 2010. p. 13-32.

MAZID, M.; KHAN T. A.; MOHAMMAD, F. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. **Biology and Medicine**, Portland, v. 3, n. 2, p. 232–249, 2011.

MCCONEGHY, K. W. et al. The empirical combination of vancomycin and a beta-lactam for *Staphylococcal* bacteremia. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 57, n. 12, p. 1760-1765, 2013

MENDONÇA, R. C. et al. Flora vascular do bioma Cerrado: checklist com 12.356 espécies. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J.F. (eds.). **Cerrado: ecologia e flora**. v. 2. Brasília: Embrapa Informação e Tecnologia, 2008. p. 423-442.

MOREILLION, P.; QUE, Y. A.; GLAUSER, M. P. *Staphylococcus aureus*. In: MANDELL, G. L.; BENNETT, J.E.; DOLIN, R. (Ed.) **Principles and Practice of**

Infectious diseases. Pennsylvania: CHURCHILL LIVINGSTONE Elsevier, 2005. p. 2333- 2339.

MULAUDZI, R.B. et al. Antimicrobial properties and phenolic contents of medicinal plants used by the Venda people for conditions related to venereal diseases. **Journal Ethnopharmacology**, Limerick, v. 135, n. 2, p. 330–337, 2011.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, London, v. 403, n. 6772, p. 853–858, 2000.

NETO, G. G.; MORAIS, R. G. Recursos medicinais de espécies do Mato Grosso: Um estudo bibliográfico. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v 17, n.4, p. 561-584, 2003.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 70, n. 3, p. 461–477, 2007.

NOGUEIRA, C. et al. Diversidade de répteis Squamata e evolução do conhecimento faunístico no Cerrado. In: DINIZ, I. R. et al. **Cerrado: conhecimento científico quantitativo como subsídio para ações de conservação**. Brasília: Editora UnB, 2010.p. 333-376.

OLAJUYIGBE, O. O.; AFOLAYAN, A. J. Synergistic interactions of methanolic extract of *Acacia mearnsii* DE WILD. with antibiotics against bacteria of clinical relevance. **International Journal of Molecular Science**, Basel, v. 13, n. 7, p. 8915-8932, 2012.

OLIVEIRA, A. C.; SILVA, R. S. Desafios de cuidar em saúde frente à resistência bacteriana: uma revisão. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, Goiania, v.10, n.1, p. 189-197, 2008.

OLIVEIRA, G.A.; LEVY, C.E.; MAMIZUKA, E.M. Estudo do perfil de resistência de 626 cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de 25 hospitais brasileiros entre setembro de 1995 e junho de 1997. **Jornal Brasileiro de Patologia**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 3, p. 147-156, 2000.

OLIVEIRA, S. M. S. et al. Modulation of drug resistance in *Staphylococcus aureus* by extract of mango (*Mangifera indica*) peel. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 190-193, 2011.

OTEO, J. et al. Carbapenemase-producing enterobacteriaceae in Spain in 2012. **Antimicrobial Agents Chemother**, Washington, v. 57, n. 12, p. 6344-6347, 2013.

OTEO, J.; ARACIL, M. B. Caracterización de mecanismos de resistencia por biología molecular: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, β -lactamasas de espectro extendido y carbapenemasas. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, Barcelona, v. 33, n. 2, p. 27-33, 2015.

PANTOSTI, A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with animals and its relevance to human health. **Frontiers Microbiology**, Lausanne, v. 3, n. 127, p. 1-12, 2012.

PESAVENTO, G. et al. Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Food Control**, Vurrey, v. 18, n.3, p. 196–200, 2007.

PRETORIUS, J.C.; MAGAMA, S.; ZIETSMAN, P.C. Growth inhibition of plant pathogenic bacteria and fungi by extracts from selected South African plant species. **South African Journal of Botany**, Pietermaritzburg, v. 20, n. 2, p. 188-192, 2003.

RATTER, J.A.; RIBEIRO, J.F.; BRIDGEWATER, S. The Brazilian Cerrado vegetation and threats to its biodiversity. **Annals of Botany**, London, v. 80, n. 1, p. 223–230. 1997.

RESENDE, A. **Infeções Nosocomiais** In.: Blog das Micro. Portugal : [s.n], 2010 Disponível em: <<http://blogdasmicro.blogspot.com.br/2010/07/infeccoes-nosocomiais.html?view=magazine>>. Acesso em: 21 Novembro 2015.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T.. As principais fitofisionomias do Cerrado. In: SANO, S.M., ALMEIDA, S.P., RIBEIRO, J.F. (Coord.) **Cerrado: Ecologia e Flora vol. 1**. Brasília, EMBRAPA, 2008p. 151–199.

RODRIGUES, V. E. G.; DE CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande – Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.1, p.102-123, 2001.

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; DE RIBEIRO, J. F. **Cerrado: Ecologia e Flora vol. 1**. Brasília, EMBRAPA, 2008.

SANTOS, K. R. N. et al. DNA typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: isolates and factors associated with nosocomial acquisition in two Brazilian university hospitals. **Journal of Medical Microbiology**, Edinburgh, v. 48, n. 1, p. 17-23, 1999.

SANTOS, S. L. D. X. **Animais e plantas utilizados como medicinais por uma comunidade rural do semi-árido da Paraíba, Nordeste do Brasil**. 2009. 154 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, Brasil, 2009.

SANTOS, A. T. B. et al. Organic extracts from *Indigoferas ufruticosa* leaves have antimicrobial and synergicactions with erythromycin against *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in Microbiology | Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy**, Lausanne, v. 6, n. 13, p. 1-7, 2015.

SARAIVA, A.M. et al Atividade antimicrobiana e sinérgica das frações das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engl. frente a clones multirresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.15, n.2, p.199-207, 2013.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C. M. O. (Org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2003.

SILVA, L. C. N. et al. Evaluation of combinatory effects of *Anadenanthera colubrina*, *Libidibia ferrea* and *Pityrocarpa moniliformis* fruits extracts and erythromycin against *Staphylococcus aureus*. **Journal of Medicinal Plants Research**, Nigeria, v. 7, n. 32, p. 2358–2364, 2013.

SILVA, O. DO P.; BERSEL, I. M. **Cerrado**. In.: Cerrado. Rio Grande do Sul: [s.n], [2015] Disponível em:

<http://pu3yka.com.br/Brasil/coisasdobrasil/cerrado/_cerrado.htm>. Acesso em: 20 Novembro 2015.

Solórzano, A. et al. Perfil florístico e estrutural do componente lenhoso em seis áreas do Cerradão ao longo do bioma Cerrado. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 328-341, 2012.

SOPIRALA M. M. et al. Synergy testing by Etest, microdilution checkerboard, and time-kill methods for pan-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents Chemother**, Washington, v. 54, n. 11, p. 4678–4683, 2010.

SRINIVASAN, D. et al .Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 74, n. 2, p. 217-220, 2001.

STEFANOVIĆ, O.; COMIC, L. Synergistic antibacterial interaction between *Melissa officinalis* extracts and antibiotics. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, Gwalior, v. 2 n. 1, p. 01-05, 2012.

SUJATHA, S.; PRAHARAJ, I. Glycopeptide resistance in gram-positive cocci: a review. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, Cairo, p. 1-10, 2012. Article ID 781679

TENOVER, F. C.; R. C. MOELLERING, J. R. The rationale for revising the Clinical and Laboratory Standards Institute vancomycin minimal inhibitory concentration interpretive criteria for *Staphylococcus aureus*. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 44, n. 2, p. 1208–1215, 2007.

TRAN, T. D. et al .Synthesis and anti Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* activity of substituted chalcones alone and in combination with non-beta lactam antibiotics. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Oxford, v. 22, n. 14, p. 4555–4560, 2012.

TRAVERSA, A. et al. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* strains isolated from food and wild animal carcasses in Italy. **Food Microbiology**, London, v. 52, n. 1, p. 154-158, 2015.

TUMBARELLO, M, et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by extended-spectrum- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: importance of inadequate initial antimicrobial treatment. **Antimicrobial Agents Chemother**, Washington, v. 51, n. 6, p. 1987-1994, 2007.

VIOLANTE, I. M. P. et al .Antimicrobial Activity Of Some Medicinal Plants From The Cerrado Of The Central-Western Region Of Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 60, n. 3, p. 1302-1308, 2012.

WEIDENMAIER, C.; GOERKE, C.; WOLZ, C. *Staphylococcus aureus* determinants for nasal colonization. **Trends Microbiology**, Cambridge, v. 20, n. 5, p. 243–250, 2012.

WHO. Global strategy for containment of antimicrobial resistance. Geneva: **World Health Organization**, 2001.

WITTE, W. et al. Emergence of a new community-acquired MRSA in Germany. **Eurosurveillance**, Saint-Maurice, v. 9, n. 1, p. 16-18, 2004.