



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
TROPICAL
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL

ADRIANO BARBOSA DA SILVA

AÇÃO CICATRIZANTE E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA A
ESTIRPES DE *Staphylococcus* RESISTENTES DO EXTRATO
ETANÓLICO DE *Psidium guajava*

RECIFE
2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
TROPICAL
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL**

ADRIANO BARBOSA DA SILVA

**AÇÃO CICATRIZANTE E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA A
ESTIRPES DE *Staphylococcus* RESISTENTES DO EXTRATO
ETANÓLICO DE *Psidium guajava***

**Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciência Animal
Tropical da Universidade Federal Rural
de Pernambuco, como pré-requisito
para obtenção do grau de Mestre em
Ciência Animal Tropical.**

Orientador:

Prof. Dr. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira

RECIFE

2016

ADRIANO BARBOSA DA SILVA

**AÇÃO CICATRIZANTE E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA A
ESTIRPES DE *Staphylococcus* RESISTENTES DO EXTRATO
ETANÓLICO DE *Psidium guajava***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal Tropical.

Aprovado em ____ de fevereiro de 2016.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira - (Orientador)

Prof^a. Dr^a. Valéria Wanderley Teixeira - UFRPE

Prof^a. Dr^a. Elineide Barbosa de Souza - UFRPE

Prof. Dr. Anísio Francisco Soares - UFRPE

"Ao meu pai, Sr. Severino Francisco da Silva, fundamental à minha formação como cidadão, DEDICO este trabalho".

AGRADECIMENTOS

À Deus por me fazer parte de sua criação e pelo amparo nos momentos mais difíceis quando precisei.

Aos meus pais pela compreensão, afeto e apoio durante estes e todos os anos em que estivemos juntos.

À Prof.^a Rosa Maria Nunes Galdino, pela amizade, apoio, colaboração e ensinamentos responsáveis por minha persistência em alcançar meus objetivos. Sempre serei grato por seus ensinamentos, sua companhia, seu carinho não só comigo, mas com todos que precisam de você. Que Deus continue abençoando sua vida.

À minha querida esposa que em tão pouco tempo tornou-se meu alicerce, meu ponto de refúgio e minha confidente nos momentos tristes e alegres. Te amarei para sempre.

À Prof.^a Dr.^a Elineide Barbosa de Souza, Supervisora da Área de Microbiologia pela confiança, pelas oportunidades, apoio e incentivo.

Ao Prof. Dr. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira, por ter me recebido de braços abertos sem mesmo conhecer-me bem, por sua fundamental orientação e apoio durante a realização deste trabalho.

Ao meu parceiro de curso Filipe Cássio, por sua sincera amizade, ajuda nos experimentos e companheirismo durante esses dois anos.

À Doutoranda Laíse Souza, pela amizade e por suas indicações tão preciosas.

À Doutoranda Bárbara Brooklyn, pela amizade e apoio.

À Doutoranda Hilda Santos, pela amizade, incentivo e apoio.

Ao PNPd/UFRPE Franklin Magliano por sua atenção e disponibilidade.

Ao Prof. Dr. Anísio Francisco Soares pela paciência nas resoluções de problemas decorrentes deste projeto.

A todos do Laboratório de Microbiologia Agrícola e Aplicada, monitores, estagiários, professores, técnicos e alunos por fazerem deste laboratório um dos mais acolhedores da UFRPE.

Ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical e a Universidade Federal Rural de Pernambuco.

A Agência de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

Aos professores, amigos e funcionários de pós-graduação do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pelo apoio e amizade durante estes anos.

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

RESUMO

O uso de plantas medicinais é um recurso terapêutico popular difundido pelas gerações ao longo dos tempos de forma empírica. A crescente necessidade de fármacos mais eficientes e com menores efeitos adversos tem levado ao estudo aprofundado desses fitoquímicos por diversos grupos de pesquisa. O objetivo desta pesquisa foi avaliar as atividades antimicrobiana e cicatrizante do extrato etanólico de *Psidium guajava* L. sobre estirpes de *Staphylococcus*. Foram avaliadas quatro estirpes de *Staphylococcus sciuri* (SsI, SsII, SsIII e SsIV) e uma de *Staphylococcus xylosus* (Sx), além da cepa controle ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus* (Sa) frente ao extrato de *P. guajava* e antibióticos. Para os teste de controle de infecção foram utilizados 20 ratos Wistar todos machos adultos separados em 4 grupos com 5 ratos cada. As folhas do vegetal foram trituradas para obtenção do extrato etanólico e tratamentos de 10, 50, 120, 210, 330, 400, 480, 530, 650 e 900 µL/mL. Sua toxicidade foi avaliada por DL-50. O perfil de resistência e a atividade antimicrobiana foram avaliados pelo método de disco-difusão, sendo o controle de infecção e cicatrização verificado a partir da aplicação subcutânea do extrato e do controle positivo (antibióticos). Apenas os tratamentos de 650 e 900 µL/mL foram considerados tóxicos com valores de DL-50 maiores que 50%. Todas as estirpes se mostraram sensíveis ao extrato com halos de inibição maiores de 20 mm. Foram consideradas como resistentes aos antibióticos oxacilina e penicilina G as estirpes SsII, Sx e SsIV e a avaliação histoquímico demonstrou que nos grupos dos animais que receberam o extrato como tratamento houve reepitelização com fibras colágenas mais densas em comparação aos demais grupos. Com isso verifica-se um grande potencial terapêutico de *P. guajava* como promissor recurso natural para o desenvolvimento de fármacos mais acessíveis às populações e de baixo impacto residual.

Palavra-chave: *Psidium guajava* L., goiaba, *Staphylococcus* ssp, histoquímica.

ABSTRACT

The use of medicinal plants is a human therapeutic resource dated years before the Christian era being the popular knowledge a vehicle for spreading the efficiency of such herbal medicines which will serve technological generations in the development of new low-cost drugs and lower residual impact. The objective of this research was to evaluate the antimicrobial activity and healing of *Psidium guajava* on strains of *Staphylococcus*. Four strains of *Staphylococcus sciuri* (SsI, SsII, SsIII and SsIV), one of *Staphylococcus xylosus* (Sx) as well as the control strain *Staphylococcus aureus* (Sa) were compared to the *P. guajava* extract and antibiotics. For infection control tests 20 Wistar mice were used, all males, separated into 4 groups of 5 mice each. The leaves of the plant were crushed to obtain the extract and 10, 50, 120, 210, 330, 400, 480, 530, 650 and 900 µL/ml treatments. Its toxicity was evaluated by DL-50. The resistance profile and antimicrobial activity were evaluated by the disk-diffusion method, the control of infection and healing were recorded after the subcutaneous application of the extract and the positive control (antibiotic). Only the treatments with 650 and 900 uL/mL were considered toxic with LD-50 values over 50%. All strains were sensitive to the extract with inhibition halos over 20 mm. They were considered to be resistant to oxacillin antibiotics and penicillin G strains SsII, Sx and SsIV and the immuno-histochemistry evaluation showed that in the groups of animals that received the extract as a treatment there was re-epithelialisation with denser collagen fibers as compared to other groups. Thus there is a great therapeutic potential of *P. guajava* as a promising natural resource for the development of more affordable drugs to the population and low residual impact.

Keywords: *Psidium guajava* L., guava, *Staphylococcus* ssp, microbial resistance, healing

SUMÁRIO

Capítulos		Pág.
1	I. INTRODUÇÃO	14
	II. REVISÃO DE LITERATURA	17
	II.I Infecção bacteriana	17
	II.I.I Mecanismos de ação das bactérias	18
	II.II <i>Staphylococcus</i> spp.	20
	II.III Antibióticos β-lactâmicos	22
	II.III.I Penicilinas	23
	II.III.II Cefalosporinas	24
	II.III.III Carbapenêmicos	25
	II.III.IV Monobactâmicos	25
	II.III.IV Mecanismos de ação dos antibióticos β -lactâmicos .	25
	II.IV Resistência estafilocócica aos antibióticos β-lactâmicos	26
	II.IV.I Dados históricos	27
	II.IV.II <i>Staphylococcus aureus</i> metilina resistente (MRSA) .	28
	II.V A Pele	29
	II.V.I Epiderme	31
	II.V.II Derme	32

	II.V.III Infecções de pele causadas por <i>Staphylococcus</i> spp.	33
	II.VI Cicatrização	35
	II.VI.I Fases do processo de cicatrização	35
	II.VI.II Coagulação	36
	II.VI.III Inflamação	36
	II.VI.IV Proliferação	37
	II.VI.V Contração da ferida	37
	II.VI.VI Remodelação	38
	II.VI Fitoterápicos e <i>Psidium guajava</i> L.....	38
	 III. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 40
2	Ação cicatrizante e controle de infecção de estirpes de <i>Staphylococcus</i> spp. Com perfil de resistência pelo extrato de <i>Psidium guajava</i> L.	48
	RESUMO	49
	I. Introdução	50
	II. Material e Métodos	52
	III. Resultados e Discussão	57
	V. Referências	74

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I	Pag.
Figura 1: <i>Staphylococcus</i> spp. visualizado ao microscópio óptico, caracterização morfotintorial pela técnica de Gram. Fonte: Tortora et al. (2010)	20
Figura 2: Estrutura molecular de um antimicrobiano β -lactâmico. Fonte: Papp-Wallace et al., (2011)	22
Figura 3: A estrutura da pele humana. Fonte: Fonte: Tortora et al. (2010)	30
Figura 4: Epiderme. Camadas e células imunológicas da epiderme humana. Fonte: Dreamstime (2010)	32
 Capítulo II	
Figura 1: Coloração de Gram das estirpes SsI (A), SsII (B), SsIII (C), SsIV (D) e Sx (E) de <i>Staphylococcus</i>	58
Figura 2: Relação entre os resultados obtidos para o teste de antibiograma e atividade antimicrobiana da estirpe SxI. ERI – Eritromicina; AMC – Ácido Clavulânico + Amoxicilina; PG – Penicilina G; CIP – Ciprofloxacina; LVX – Levofloxacina; OXA – Oxacilina; CFL – Cefalotina; IPM – Imipenem; NOR – Norfloxacina; GEN – Gentamicina	63
Figura 3: Teste de toxicidade (DL-50) com cistos de <i>Artemia salina</i> (24h)	66
Figura 4: Formação de crosta nos ferimentos dos ratos 1 dos diferentes grupos. a – grupo 1, pós trauma; b – grupo 1, 1º dia; c – grupo 2, 1º dia	68

Figura 5:	Avaliação macroscópica dos ferimentos e processo de cicatrização ao quinto dia de avaliação. a – rato 1 do grupo 1(extrato); b – rato 2 do grupo 2 (antibiótico)	69
Figura 6:	Fragmentos das áreas de cicatrização dos animais dos grupos experimentais. Notar na derme, a presença de fibras colágenas mais espessas em A (Extrato) e B (Antibiótico). Em C (Álcool) e D (Placebo) a derme apresenta-se com grande teor de fibras colágenas delgadas. Notar ainda ausência de epiderme neste último grupo. Epiderme - setas longas; Fibras colágenas espessas - Fcd; Fibras colágenas delgadas; Ausência de epiderme - seta curta. Coloração Tricrômico de Gomori	71
Figura 7:	Quantificação em pixels do teor de colágeno. Notar redução significativa dos pixels entre os grupos extrato e antibiótico e em relação aos outros. *Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis com post-hoc Dunn ($p < 0,05$)	72

LISTA DE TABELAS

Capítulo II	Pag.
Tabela 1: Antibiograma das estirpes de <i>Staphylococcus</i> (24h). ERI – Eritromicina; AMC – Ácido Clavulânico + Amoxicilina; PG – Penicilina G; CIP – Ciprofloxacina; LVX – Levofloxacina; OXA – Oxacilina; CFL – Cefalotina; IPM – Imipenem; NOR – Norofloxacina; GEN – Gentamicina	59
Tabela 2: Atividade antiestafilocócica do extrato etanólico de <i>Psidium guajava</i> L. (24h)	61

1. INTRODUÇÃO

Os fitoterápicos representam um grande número de agentes terapêuticos cada vez mais utilizados pela população mundial. Sob esse aspecto é crescente as atividades de pesquisas direcionadas à identificação dos principais constituintes das plantas usadas pela medicina popular, e também, pelos estudos farmacológicos que tentam comprovar as atividades terapêutica e toxicológica desses produtos naturais de origem vegetal (FARIAS, 2003).

Um dos aspectos mais importantes no processo de cicatrização pode decorrer justamente da utilização de substâncias farmacológicas que comprovadamente apresentem este potencial, investigado por inúmeras atividades de pesquisas (MARTINS, 2006).

Segundo a OMS (Organização Mundial de Saúde), apesar do uso de plantas medicinais terem sua origem desde o início das civilizações e um grande aumento de popularidade na última década, sua utilização não foi reconhecida oficialmente por maioria dos países o que, de forma direta, acabou interferindo e gerando consequências negativas quanto à educação, treinamento e pesquisa nesta área, que acabou sem reconhecimento e suporte. A falta de dados qualitativos e quantitativos para garantir segurança e eficácia de uso mundial dos fitomedicamentos não foi alcançada e, entre outros fatores, a lacuna quanto a metodologias de pesquisas adequadas para sua avaliação são as razões desta falta (WHO, 2000).

No Brasil, assim como na América Latina, o uso de fitoterápicos é uma alternativa terapêutica economicamente satisfatória comparada ao uso sistemático de medicamentos alopáticos, uma vez que é caracterizada pela utilização direta de plantas no tratamento de doenças (CARVALHO et al., 2002). Ainda assim, o uso popular de plantas medicinais geralmente é realizado de forma ineficaz e insegura, resultado de um sistema brasileiro de saúde pública ineficiente, levando as populações a recorrerem ao uso irregular dos fitoterápicos (SILVA et al., 2006).

O conhecimento e uso popular de fitoterápicos têm justificado a pesquisa científica sobre a eficiência no uso das plantas medicinais. Alguns estudos têm

comprovado potencial antimicrobiano de membros da família Myrtaceae. Neste contexto, pesquisas científicas vêm demonstrando resultados positivos de *Psidium guajava* L. como uma alternativa terapêutica para certas patologias (CARVALHO et al., 2002) sendo considerada a espécie do gênero Myrtaceae mais distribuída, de grande importância econômica, devido as suas diversas formas de utilização (SOUZA JÚNIOR et al., 2002), é denominada comumente de goiabeira, conhecida na região Amazônica como goiaba, apesar de suas outras denominações. Nesta região as folhas são empregadas no tratamento caseiro de distúrbios gastrointestinais, em bochechos no tratamento de inflamações da boca e da garganta (LOZOYA et al., 2002).

Atualmente já são conhecidos diversos fitoconstituintes de plantas medicinais e estudos em modelos experimentais (como o de resistência microbiana) realizados com a intenção de se conhecer a atividade biológica *in vitro* e *in vivo* desses fitoconstituintes (MYIAKE et al., 2004). Dentre essas, *P. guajava*, que apresenta em folhas secas, no mínimo, 5,5% de tanino totais, 1,0% de flavonoides totais calculados como quercetina, 0,2% de óleo essencial, sendo este último constituído de, no mínimo, 15% de β -cariofileno (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2002). Devido ao alto teor de taninos e de flavonóides em suas folhas, os extratos metanólicos e aquosos podem apresentar atividade cicatrizante.

Segundo o *National Center for Biotechnology Information* (2006), existem cerca de 42 espécies de *Staphylococcus*, das quais 20 são associadas a uma ampla variedade de infecções de caráter oportunista, em seres humanos e em animais (KONEMAN et al., 2001)

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Micrococcaceae* e está amplamente distribuído em diversos nichos ecológicos, compreendendo mais de 30 espécies já descritas por métodos de análise bioquímica e, mais especificamente por hibridação DNA-DNA, das quais 17 podem ser isoladas de amostras biológicas (GIAMMARINARO et al., 2005; MACHADO, 2007; SANTOS, 2008).

Devido ao frequente aumento da resistência de *Staphylococcus aureus* a diversos antimicrobianos como a oxacilina e que expressam plasmídeos com

alta frequência de transferência, diferentes linhas de pesquisa têm conduzido estudos sobre mecanismos alternativos com o objetivo de desenvolver drogas antiestafilocócicas e controlar a disseminação das linhagens resistentes. Vários grupos de pesquisa desenvolvem estudos sobre princípios ativos derivados de plantas e os resultados têm sido bastante promissores e estabelece uma nova fonte de substâncias para o desenvolvimento de medicamentos (EVANS, 1996; THULER et al., 1999; ARAÚJO et al., 2000; YUNES et al., 2001; FREITAS, 2003).

Segundo a Organização Mundial de Saúde cerca de 20.000 espécies de diferentes plantas são utilizadas para fins terapêuticos em todo o mundo (PHILLIPSON, 1994; MARTINS et al., 2000). Outro determinante na pesquisa de medicamentos naturais envolve o contexto econômico, pois plantas medicinais são facilmente cultivadas e adquiridas tanto em mercados populares como em farmácias especializadas, em sua forma bruta ou já manipuladas, respectivamente (CALIXTO, 2000). Assim, o presente estudo se propôs: I - avaliar a atividade cicatrizante e o controle de infecção de *Staphylococcus* com genes de resistência a drogas, com extrato etanólico de *P. guajava*; II - analisar histologicamente a regeneração dos tecidos lesados tratados com o extrato etanólico de *P. guajava* e III - determinar a DL50 do extrato em larvas de *Artemia salina*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Infecção Bacteriana

As bactérias são microrganismos unicelulares, identificadas pela primeira vez pelo neerlandês Anton Van Leeuwenhoek, por volta dos anos de 1670, após a invenção do microscópio no século XVI (PATRICK, 2005). De acordo com o *status* de classificação mais atual dos seres vivos, esses microrganismos estão reunidos nos Domínio *Bacteria* e *Archaea*, dentre esses, as mais comuns pertencem ao Domínio *Bacteria* (Universidade de São Paulo, 2015). Eles estão entre os menores organismos existentes, medindo de 0,5 a 2,0 μm de diâmetro, com morfologia diversa, mas, geralmente apresentam três formas básicas: esféricas (cocos), em bastão (bacilos) e curvos (vibrião, espirilo e espiroqueta). Além disso, podem ser encontrados em grupos de células, formando arranjos que se originam quando as células em divisão não se separam uma das outras (*estrepto*, *estafilo*).

São amplamente distribuídos, sendo encontrados em praticamente todos os ambientes, inclusive sobre o corpo humano compondo sua microbiota. O corpo de um ser humano adulto possui aproximadamente 10 trilhões de células próprias e 100 trilhões de células microbianas na superfície da pele, nas membranas mucosas e nas cavidades digestivas, respiratórias e reprodutoras. A grande maioria dos organismos da microbiota humana são comensais, vivendo em associação sem causar danos ao hospedeiro, porém, alguns microrganismos denominados oportunistas podem causar doenças em condições de deficiência das defesas normais do hospedeiro, acesso a locais incomuns do corpo e distúrbios da própria microbiota (BLACK, 2002).

Somente a partir do século XIX que os microrganismos passaram a ser investigados como agentes etiológicos de processos infecciosos e causadores de doenças. Em meados do século XIX a *Teoria Germinal das Doenças* afirmava que os microrganismos podiam invadir outros organismos e causar doenças. Esta hipótese surgiu a partir das grandes contribuições científicas de Louis Pasteur, que observou a associação entre organismos específicos e

determinadas doenças e, por Robert Koch, que postulou o conceito de “um organismo, uma doença” em que ele afirmava que uma doença infecciosa era causada por um único microrganismo (BLACK, 2002; PATRICK, 2005).

Nesse contexto, o termo infecção se refere, de acordo com Martins (2006), ao ato ou efeito de infeccionar-se, contaminação, corrupção, penetração, desenvolvimento e multiplicação de seres inferiores no organismo de um hospedeiro, de que podem resultar, para este, consequências variadas, habitualmente nocivas, em grau maior ou menor. Para Black (2006), infecção se refere à multiplicação de qualquer organismo parasita dentro ou sobre o corpo do hospedeiro e, quando esta infecção prejudica o funcionamento normal desse hospedeiro, ocorre a doença.

Segundo Tortora et al. (2010), uma doença infecciosa é a que ocorre quando um patógeno, microrganismo capaz de promover doença, invade um hospedeiro susceptível, efetuando pelo menos uma parte de seu ciclo de vida dentro do hospedeiro que, com frequência, resulta em uma doença.

2.1.1 Mecanismos de ação das bactérias

Os microrganismos, mas comumente as bactérias, exercem ações que os possibilitam causar diversas doenças: acesso ao hospedeiro, aderência e colonização nas superfícies celulares, invasão de tecidos e a produção de toxinas e outros produtos metabólicos nocivos são alguns destes mecanismos de patogenicidade. As bactérias patogênicas frequentemente apresentam fatores de virulências como características estruturais e fisiológicas que ajudam a causar infecções e doenças. Elas possuem estruturas especiais ou características fisiológicas que aumentam suas chances de invadir e infectar um hospedeiro com sucesso (BLACK, 2006). A aderência é certamente um dos fatores críticos das infecções bacterianas, a ocorrência de certas infecções são dependentes da interação existente entre as membranas plasmáticas das células do hospedeiro e os fatores de aderência bacterianos. A aderência bacteriana frequentemente é mediada por adesinas, fimbriais manose-sensíveis (pili tipo I) e manose-resistentes (fímbrias P e S) estruturas

151 responsáveis pela permanência do contato agente infeccioso-hospedeiro
152 (KNÖBL, 2006).

153 A permanência no sítio da infecção danifica as células do hospedeiro e a
154 produção de enzimas patogênicas, que contribuem para as lesões tissulares,
155 são também um outro fator de virulência. Segundo Tortora et al. (2010), as
156 enzimas coagulase são enzimas que coagulam o fibrinogênio do sangue, que é
157 convertido à fibrina, gerando uma malha que forma o coágulo sanguíneo.
158 Esses coágulos podem proteger a bactérias da fagocitose pelas células do
159 hospedeiro e de outras defesas inespecíficas e específicos. Ainda segundo o
160 autor, essas enzimas são produzidas por apenas alguns membros do gênero
161 *Staphylococcus*, no entanto, mesmo os *Staphylococcus* Coagulase-Negativos
162 (SCN) podem ainda ser virulentos.

163 Arbuthnott et al. (1990) e Lina et al. (1999), concordam que organismos
164 do gênero *Staphylococcus* podem provocar três tipos básicos de síndromes,
165 entre elas as síndromes tóxicas, que ocorrem pela produção de proteínas
166 extracelulares de baixo peso molecular, denominadas enterotoxinas
167 estafilocócicas. Pertencem a uma grande classe de exotoxinas pirogênicas,
168 resistentes à hidrólise das enzimas digestivas e jejunais, e ainda termoestáveis,
169 que garante sua viabilidade mesmo após aquecimento a 100 °C durante alguns
170 minutos.

171 Millezi (2012), afirma que uma grande diversidade de microrganismos
172 pode aderir a superfícies bióticas e abióticas, conferindo-lhes características
173 especiais de resistência como proteção a antibióticos, desinfetantes e a
174 ambientes dinâmicos. De acordo com Clonts (2008), a formação de biofilmes é
175 de inquestionável importância à sobrevivência dos microrganismos em ambientes
176 diversos. Segundo o mesmo, as células em biofilmes são muito mais
177 resistentes a desinfetantes que as células livres, e possui em sua estruturação
178 uma matriz de exopolissacarídeo, criando um microambiente com regiões
179 aeróbias e anaeróbias com células em estado de “dormência” (persister cells)
180 em que os métodos convencionais de desinfecção são ineficientes, requerendo
181 doses elevadas de desinfetantes. Em comunidades de biofilmes é possível
182 ainda a transferência gênica entre bactérias por meio de plasmídeos
183 possibilitando, por exemplo, resistência a antibióticos (TENOVER, 2006).

2.1.2 *Staphylococcus spp.*

De acordo com o *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, o gênero *Staphylococcus* (do grego “*staphyle*” = cacho de uvas e “*coccus*” = semente ou grão) compreende todos os microrganismos que pertencem à família Micrococcaceae. As células, visualizadas ao microscópio óptico, são cocos (células esféricas) Gram-positivos, medindo entre 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, imóveis, não produtoras de esporos, formando arranjos espaciais individuais, aos pares e em agrupamentos irregulares devido ao seu plano de divisão aleatório ou em vários planos como pode ser verificado na Figura 1 (KONEMAN et al., 2001; FRANCO; LANDGRAF, 2002; GOMES, 2015).

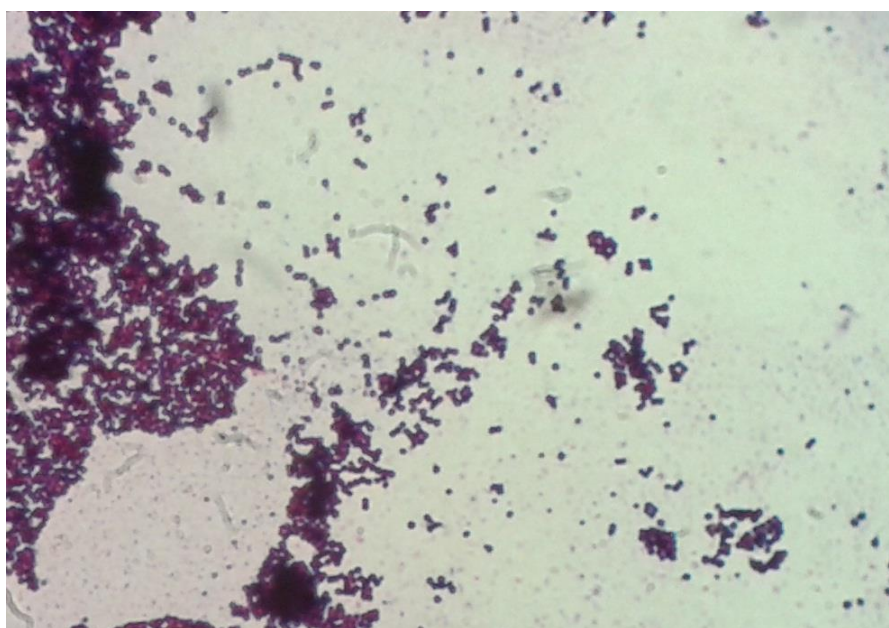


Figura 1. *Staphylococcus sciuri* visualizado ao microscópio óptico, caracterização morfotintorial pela técnica de Gram. Fonte: própria.

Esses microrganismos são aeróbios ou anaeróbios facultativos, quimiorganotróficos com metabolismo respiratório ou fermentativo, produtores de catalase, com capacidade de fermentar diversos carboidratos, especialmente em condições de aerobiose com produção final de ácidos.

Geralmente halotolerantes em concentrações de cloreto de sódio que varia de 10% a 20%, coagulase positivos ou negativos, termonuclease positivos, sensíveis à ação da lisostafina, oxidase-negativos, apresentam ácido teicóico como constituinte de sua parede celular e conteúdo bastante reduzido de guanina e citosina (30 % a 39%) em seu DNA, características que os diferenciam dos *Micrococcus* (KLOSS; LAMBE, 1991; RAVEL, 1997; FRANCO; LANDGRAF, 2002; TRABULSI et al., 2002; GOMES, 2015).

Ainda de acordo com Gomes (2015), as colônias de *Staphylococcus* spp. são opacas, com variações entre brancas, creme, amarela e laranja. São mesófilos, com faixa de temperatura de crescimento entre 4 e 46 °C mas com temperatura ótima de 35 a 37 °C, capacidade de crescimento em pH em escala compreendida entre 4,0 e 9,8 com ótimo entre 6,0 e 7,0 e capacidade de crescimento com atividade em água (Aa) de 0,86 (FRAZIER; WESHOFF, 2000; FRANCO; LANDGRAFF, 2000; JAY, 2005).

Dados complementares a esses são os do *National Center for Biotechnology Information* (2006), que afirma existir cerca de 40 espécies de *Staphylococcus*, das quais 20 são associadas a uma ampla variedade de infecções de caráter oportunista, em seres humanos e em animais (KONEMAN et al., 2001). O primeiro relato de microrganismos deste gênero é de 1878, quando foi isolado e descrito pelo alemão Robert Koch. Logo após, em 1880, o médico escocês Alexander Ogston adotou o nome do gênero da palavra grega *staphylo* que significa cacho de uvas e também evidenciou sua patogenicidade para cobaias e camundongos (GOMES, 2015). São microrganismos de ampla distribuição, mas são encontrados principalmente na pele e nas mucosas dos seres humanos e de outros mamíferos e aves (NEVES et al., 2007). As vias de transmissão podem ser pessoa-pessoa, objetos-pessoa (ou vice-versa), animais-pessoas (ou vice-versa). Pode ocorrer, inclusive, de pessoas infectadas para outras saudáveis, mas que não apresentam sintomas (BASTOS, 2008).

Dentre as espécies catalogadas no gênero *Staphylococcus* destacamos as espécies *Staphylococcus sciuri* e *Staphylococcus xylosus*. Segundo Kloos (1994) são descritas como coagulase-negativos, extensivamente estudados, nos últimos anos, devido sua patogenicidade e envolvimento com algumas

doenças humanas e animais. São reconhecidos como causa comum de infecções hospitalares e um importante patógeno de infecções da corrente sanguínea em casos de cuidados intensivos (SHITTU, 2004). Estirpes da espécie *S. sciuri* têm sido associadas a infecções humanas graves como endocardite, peritonite, septicemia e feridas.

2.2 Antibióticos β -lactâmicos

Os β -lactâmicos são uma classe de drogas que se caracterizam quimicamente pela presença, em sua molécula, de um grupamento heterocíclico azetidina denominado anel β -lactâmico (apontado pela seta na figura 2). O termo lactama designa uma amida cíclica e a letra β indica uma posição química: o segundo carbono mais próximo da função ácido carboxílico (TAVARES, 2001).

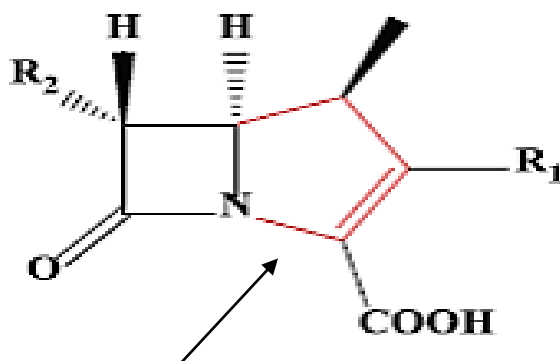


Figura 2. Estrutura molecular de um antimicrobiano β -lactâmico. Fonte: Papp-Wallace et al., (2011).

Essa classe de antibióticos compreendem quatro grupos de drogas que atuam sobre a parede celular dos microrganismos: penicilínicos, cefalosporínicos, carbapenêmicos e monobactâmicos (NASCIMWENTO, 2004).

2.2.1 Penicilinas

As penicilinas naturais, como a penicilina G e V, são extraídas da cultura do fungo filamentoso *Penicillium notatum*. A meticilina, primeira penicilina semissintética, surgiu da necessidade pelo desenvolvimento de uma nova droga isenta da ação das β -lactamases, fenotipicamente expressas por cepas de *S. aureus* resistentes. Outras penicilinas semissintéticas como a oxacilina, nafcilina, ampilicilina, amoxicilina, carbenicilina e a ticarcilina, surgiram em rápida sucessão. Cada uma é sintetizada pela adição de uma cadeia lateral especial a um núcleo de penicilina (BLACK, 2002).

A penicilina G, a penicilina natural mais frequentemente utilizada, é administrada por via parenteral, ou seja, por uma via diferente da entérica, tal como por via intramuscular ou endovenosa. Quando administrada por via oral, a sua maior parte é degradada pelos ácidos estomacais. É um β -lactâmico apropriado para tratar infecções causadas por algumas variedades de estafilococos e gonococos que não sejam a ele resistentes. O fato de sua atividade se conservar na urina a torna de preferência no tratamento de algumas infecções do trato urinário. A alergia à penicilina G é rara entre crianças, mas ocorre em 1 a 5% dos adultos. As penicilinas são geralmente atóxicas, no entanto, doses elevadas podem ter efeitos tóxicos sobre os rins, fígado e sistema nervoso central (MOODLEY, J; HOOSEN, 1996).

No ano de 1959, com o isolamento do ácido 6-aminopenicilânico (6-APA), foi possível a produção de penicilinas semissintéticas. Modificações na cadeia desse precursor da penicilina resultaram em proteção do anel β -lactâmico contra a ação hidrolítica das β -lactamases. Os primeiros desses agentes antimicrobianos disponíveis para uso clínico foram a oxacilina e a meticilina, que solucionaram temporariamente o problema causado pela resistência do *S. aureus* à penicilina. Contudo, o uso desses agentes foi rapidamente seguido pelo surgimento de cepas resistentes em 1961 (MARANAN et al., 1997).

2.2.2 Cefalosporinas

As cefalosporinas naturais, derivadas de diversas espécies do fungo *Cephalosporium*, possuem ação microbicida limitada. Sua descoberta levou a um grande número de derivados semissintéticos bactericidas da cefalosporina C natural. As cefalosporinas semissintéticas, do mesmo modo que as penicilinas semissintéticas diferem na constituição de suas cadeias laterais. As frequentemente usadas incluem a cefalexina, a cefradina e o cefadroxil, todas as quais são bem absorvidas por via oral. Outras cefalosporinas tais como a cefalotina, cefapirina e a cefazolina, devem ser administradas por via parenteral, geralmente nos músculos ou nas veias (TAVARES, 2001).

Embora as cefalosporinas não sejam geralmente a primeira droga de escolha no tratamento de uma infecção, elas são frequentemente usadas quando alergias ou toxicidade impedem o uso de outras drogas. Mas, pelo fato de as cefalosporinas serem estruturalmente semelhantes à penicilina, alguns pacientes que são alérgicos à penicilina podem também ser sensíveis às cefalosporinas. Entre os β -lactâmicos elas representam drogas de amplo espectro de atividade, raramente causam efeitos colaterais graves e podem ser usadas profilaticamente em pacientes submetidos a cirurgias (BLACK, 2002).

O desenvolvimento de novas variedades de cefalosporinas parece ser uma corrida contra a capacidade das bactérias de adquirirem resistência a variedades mais antigas. Quando os organismos se tornaram resistentes às cefalosporinas iniciais, de primeira geração, foram produzidas cefalosporinas de segunda geração e logo após cefalosporinas de terceira geração (RODRIGUES, 2007).

Os efeitos adversos provocados pelas cefalosporinas tendem a apresentar reações locais, tais como irritação no local da injeção ou náusea, vômitos e diarreia, quando a droga é administrada por via oral. Dos pacientes alérgicos à penicilina, 4 a 15% também tendem a ser alérgicos às cefalosporinas (BLACK, 2002).

2.2.3 Carbapenêmicos

Os carbapenens representam grupo novo de antibióticos bactericidas com estrutura dupla. A primaxina, um carbapenem típico, é constituído de um antibiótico β -lactâmico (imipenem), que interfere na síntese da parede celular, e da citastina sódica, um composto que impede a degradação da droga nos rins. Como grupo, os carbapenens possuem um espectro de atividade extremamente amplo (BLACK, 2002).

2.2.4 Monobactâmicos

Entre os mais novos antibióticos β -lactâmicos está o grupo dos antibióticos monobactâmicos, representados pelo aztreonam (MONTIANI-FERREIRA et al., 1999). Os antibióticos monobactâmicos possui apenas um único anel estrutural que não é afetado por β -lactamases (Figura 6). O aztreonam um antibiótico beta-lactâmico monocíclico monobactâmico, possui espectro de ação estreito (LOEB, 1993; AXELROD et al., 1994; GARVEY, 1995; PAPICH, 1995).

2.2.5 Mecanismos de Ação dos Antimicrobianos β -lactâmicos

Os antimicrobianos podem atuar de diversas maneiras, interferindo em processos metabólicos ou em estruturas do microrganismo. O mecanismo de ação é exercido essencialmente por interferência na síntese da parede celular, alterações na permeabilidade da membrana citoplasmática, interferência na replicação do cromossomo e na síntese proteica (TENOVER, 2006).

O mecanismo de ação primordial exercido pelos antimicrobianos β -lactâmicos é o bloqueio da síntese do peptideoglicano ou mureína, constituintes da parede celular bacteriana pela inativação da transpeptidase, enzima essencial nesta síntese (TAVARES, 2001).

A parede celular é responsável por dar forma e rigidez à célula bacteriana. Ela serve como uma barreira osmótica permitindo que as bactérias retenham nutrientes, proteínas essenciais e ácidos nucleicos em seu interior e mantenham certas moléculas em seu exterior (KOCH, 2003). Nos microrganismos Gram-positivos, esse mucopeptídeo compreende 60% da parede celular, sendo o restante constituído de ácidos teicóico, ribonucleato de magnésio e carboidratos (OPAL; COHEN, 1999; GINSBURG, 2002).

A síntese do peptideoglicano ocorre em três etapas: a primeira ocorre no citoplasma bacteriano e resulta na formação de um derivado do ácido N-acetilmurâmico, o ácido uridinodifosfato-N-acetilmurâmico. Na segunda etapa ocorre à formação de um composto do ácido N-acetilmurâmico com um pentapeptídeo, que será transportado por um fosfolípido para fora da membrana citoplasmática, juntamente com moléculas de N-acetilglicosamina. No meio externo ocorrerá à terceira etapa com reações de transglicosamilação e transpeptidação (MAINARDI et al., 2002).

Proteínas ligadoras de penicilina ou PBPs (*Penicillin-Binding Proteins*) são proteínas situadas na face externa da membrana citoplasmática, que tem atividade enzimática de transglicosidases, transpeptidases, carboxipeptidases e endopeptidases, e participam da terceira etapa da biossíntese das novas moléculas de peptidioglicano (PERITI; MAZZEI, 1999). Estas PBPs são os principais alvos dos antibióticos beta-lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e monobactâmicos), os quais inibem sua ação e, consequentemente, a formação do peptidioglicano havendo lise osmótica e por tanto, morte celular (SINGH, 2004).

2.3 Resistência Estafilocócica aos Antibióticos β -lactâmicos

As características e a capacidade de microrganismo adquirem resistência e os seus fenômenos são estudados desde o advento da resistência dos patógenos quando em 1905 Ehrlich, Franke e Roehl, descobriram a resistência dos tripanossomos, quando tratados com arsênio e que o mecanismo adquirido era transferido à progênie, via mecanismo de herança gênica. Posteriormente,

em 1941, pesquisas com isolados bacterianos puros submetidos às concentrações basais de sulfonamidas em longo prazo, deram origem a cepas resistentes, em colônias que anteriormente mostravam-se sensíveis (ALBERT, 1968).

2.3.1 Dados Históricos

Alexandre Fleming, considerado o pai da microbiologia e descobridor da capacidade de resistência das bactérias aos antimicrobianos, descreveu em 1929 cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, resistentes a antibiótico, por mecanismo natural. Posteriormente em 1940, Abraham e Chain, mostraram que uma enzima extraída de lisados de *Escherichia coli*, quebrava a estrutura molecular da penicilina, denominando-a de penicilinase, mas somente em 1944, foi descrito pela primeira vez a resistência natural de *S. aureus* isolados de pacientes. Hoje, os mecanismos de resistência bacteriana já são conhecidos em todos os grupos de bactérias, bem como os mecanismos de aquisição da resistência e as suas correlações moleculares (JACOBY, 1998).

Com a descoberta da penicilina, por Alexandre Fleming e sua utilização no tratamento das infecções acreditou-se que as doenças infecciosas deixariam de ser um problema na prática médica. No entanto, pouco tempo depois, após o início da sua utilização, em 1946, cerca de 5% dos *S. aureus*, isolados de pacientes ou portadores já eram resistentes à penicilina. Em 1949, esta resistência podia ser percebida em 29% dos estafilococos isolados em hospitais, em 1950 esse número chegou a 50% e em 1959, era cerca de 80% em hospitais americanos.

Assim, a utilização da penicilina funcionou muito bem até a década de 1960 quando começaram a aparecer os isolados resistentes a esse antimicrobiano. Para contornar o problema, foi criado o β -lactâmico sintético meticilina, que era resistente a ação das β -lactamases que o *S. aureus* produzia. Entretanto, logo após o advento da meticilina, surgiram relatos de amostras resistentes também a esse antimicrobiano, além da expressão de multirresistência. Essas cepas foram denominadas de MRSA (*Staphylococcus*

aureus resistente a meticilina) e são resistentes a todos os antimicrobianos β -lactâmicos (LOWY, 1998).

2.3.2 *Staphylococcus aureus* Meticilina Resistente (MRSA)

Segundo BUSTOS-MARTÍNEZ (2006), tradicionalmente as infecções causadas pelo MRSA estavam limitadas aos hospitais (HA-MRSA); mas, nos últimos anos, as infecções associadas ou adquiridas na comunidade e denominadas de CA-MRSA estão sendo documentadas de forma crescente em todo o mundo.

De acordo com Chambers (1997), os antimicrobianos β -lactâmicos se ligam a proteínas que participam da síntese da parede celular, chamadas PBPs (proteínas ligadoras de penicilina), impedindo a formação da parede celular e resultando em lise bacteriana. O mecanismo de resistência a meticilina está relacionado ao desenvolvimento de uma PBP adicional, a PBP2a, que é plenamente funcional, mas não tem afinidade por antimicrobianos beta-lactâmicos. A codificação dessas novas PBPs, tornando esses patógenos resistentes a oxacilina, está relacionada à aquisição do gene *mecA*, o qual faz parte de um elemento genético móvel detectado em isolados de MRSA. Esse gene é parte integrante de um elemento genômico denominado “cassete cromossômico estafilocócico *mec*” (*SCCmec*).

Os mecanismos de resistência aos antimicrobianos são baseados na expressão fenotípica dos caracteres gênicos, herdados ou adquiridos, os quais são responsáveis pela biossíntese de enzimas ou diferentes fenômenos moleculares capaz de degradar, inativar, bloquear ou expulsar o antibiótico. (MCDONALD, 1966; ZULIANI; TRABULSI, 1972; TRABULSI, 1973; NOVICK, 1980; LEVY, 1982; SUASSUNA, 1983; LACEY, 1984; SAUNDERS, 1984). Esses mecanismos de aquisição de resistência podem ser classificados em dois grupos principais: mutação em um gene no cromossomo bacteriano, ou aquisição de um gene de resistência de outro microrganismo, através de transdução, transformação ou conjugação e estes genes geralmente se encontram nos plasmídeos e transposons bacterianos (ITO et al., 2003). Essas

modificações no genoma dos microrganismos normalmente estão relacionadas à: mudança na enzima ou estrutura alvo, mudança na via metabólica alvo, bombas de efluxo e inativação do antibiótico por sua degradação e/ou inibição competitiva (PRESCOT; HARLEY; KLEIN, 2002).

2.4 A Pele

Firmino (2010), afirma em seu trabalho que, a pele é uma estrutura de revestimento do organismo, de extrema importância, que isola os componentes orgânico do meio exterior. Composta por uma variedade de tecidos de forma a se organizar adequadamente para desenvolvimento de suas funções. Em um adulto médio, a pele ocupa uma área de 1,9 m² e espessura que varia de 0,05 a 3,0 mm (TORTORA et al., 2010) representando, segundo Boranic et al. (1999) o maior órgão do corpo humano com 15% do peso corporal.

De acordo com Black (2002), a pele é uma barreira para a maioria dos microrganismos, importante para as defesas inespecíficas do sistema imunológico. Ela é composta por duas diferentes camadas de tecidos: uma superfície constituída de uma tênue **epiderme** desprovida de vasos sanguíneos, composta por células epiteliais contendo em sua porção mais externa várias fileira de células mortas e uma proteína impermeabilizante, a queratina; e uma camada subjacente, a **derme**, mais espessa em relação a epiderme, constituída basicamente por tecido conectivo (Figura 3) e, inseridos na derme podem ser encontrados folículos piloso e ductos das glândulas sudoríparas e sebáceas que podem proporcionar uma via de passagem por onde microrganismos podem penetrar em tecidos mais profundos.

A transpiração pode fornecer umidade e nutrientes aos microrganismos, mas ainda assim, a presença de sais, oriundos da mesma transpiração pode inibir o crescimento microbiano, além de lisozimas que quebram a parede celular de alguns micróbios, peptídeos antimicrobianos, a produção de ácidos orgânicos que ajudam a manter o pH ácido da pele e uma microbiota normal diversificada que compete com patógenos por espaço, dificultam o seu

estabelecimento e colonização que provavelmente acarretaria em danos
tissulares (TORTORA et al., 2010).

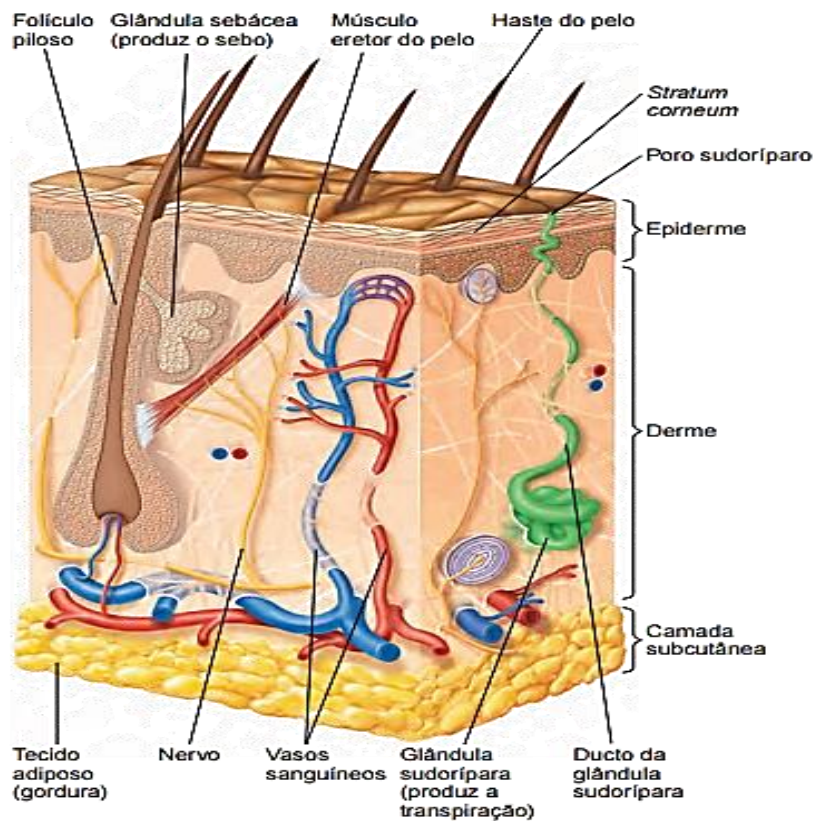


Figura 3. A estrutura da pele humana. Fonte: Tortora et al. (2010).

De fato a pele é uma barreira mecânica muito eficiente contra as invasões
microbianas. Compõe um dos mecanismos inespecíficos da imunidade como
primeira linha de defesa do organismo. A capacidade coordenada que as
células cutâneas apresentam em iniciar e regular a intensidade da resposta
imunológica da pele, mantendo a sua homeostase, levou a que se
considerasse a pele como um órgão imunologicamente competente
(LARREGINA; FALO, 2001). Assim, segundo Bruch-Gerharz et al. (1998), a
pele é, por excelência, um local de atividade imunológica importante devida à
constante exposição às condições ambientais, tais como estresse físico,
traumatismos, substâncias químicas irritantes e microrganismos infecciosos

oportunistas que explicam a ocorrência de constantes reações imunológicas permitindo a manutenção das defesas adequadas.

2.4.1 Epiderme

A epiderme é a camada mais externa do tecido epitelial, constituída por uma camada basal (*stratum germinativum*), responsável pela renovação celular, queratinócitos, melanócitos que produzem melanina e responsáveis pela pigmentação da pele, e células do sistema imune como as células de Langerhans (Figura 3) (REDHER et al., 2004; SOUTO et al., 2006).

Segundo Gartner e Hiatt (2003), é uma camada de epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, sobreposta por cinco camadas organizadas estruturalmente, a partir da superfície interna inferior compreendendo: camada basal, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea como visualizado na figura 4. Na camada basal, também conhecida por germinativa, as células cúbicas são responsáveis por originar outros tipos de células que compõem a epiderme, pois, apresentam alta atividade proliferativa. Logo acima se encontra a camada espinhosa com células morfologicamente achatadas, com núcleo central e pequenas expansões no citoplasma que dá o aspecto de espinho. Sobre está camada situa-se a camada granulosa, também com células achatadas ricas em proteínas, lipídeos e grânulos envoltos por membranas provenientes da camada espinhosa. A camada lúcida é caracterizada pela ausência de folículos pilosos, apresentando células com morfologia achatada, rica em grânulos proteicos e normalmente corresponde a palma das mãos e planta dos pés. Por fim, a camada mais superficial da epiderme, a camada córnea, que atua como barreira para o órgão cutâneo. Essa última camada é constituída por células escamosas, achatadas e mortas, repleta de queratina em seu citoplasma correspondendo ao estágio final de diferenciação celular das células da camada germinativa (ARNOLD et al., 1994; JUNQUEIRA, 1999; AMÂNCIO, 2003).

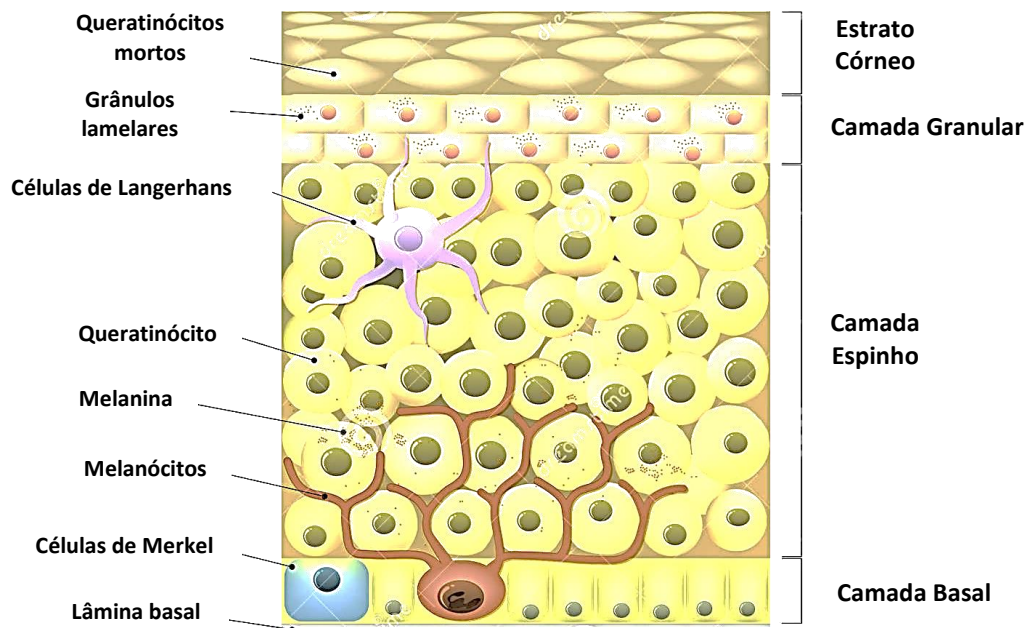


Figura 4. Epiderme. Camadas e células imunológicas da epiderme humana.
Fonte: Dreamstime (2010).

As células de Langerhans, visualizadas na figura 4, na camada espinhosa, como células caracterizadas por seu aspecto irregular, estrelada e com prolongamentos citoplasmáticos longos e delgados, estão presentes na epiderme, mas tem sua origem em células-tronco hematopoiéticas que migram e se estabelecem na grande maioria dos epitélios pavimentosos definindo a imunidade local (AUSTYN, 1998; CHARTON-BAIN et al., 1998; LINS et al., 2003).

2.4.2 Derme

A derme está situada como camada cutânea mais profunda entre a epiderme e o tecido subcutâneo e se caracteriza por grande quantidade de fibras colágenas e elásticas. Sua função envolve a participação na sustentação da epiderme, nos processos fisiológicos e patológicos do órgão cutâneo. Em sua composição encontram-se tipos celulares como fibroblastos, mastócitos,

linfócitos e células dendríticas dermais, responsáveis pela defesa imunológica da pele (GONÇALVEZ, 1990; NESTLÉ et al., 1993).

Estruturalmente a derme é subdividida em outras duas camadas: a camada papilar, pouco espessa, com grande quantidade de tecido conjuntivo frouxo e fibroblastos, constituída por colágeno tipo III e vasos sanguíneos de menor calibre; e a camada reticular, caracterizada por feixes dérmicos constituídos por colágeno tipo I, permeados por colágeno tipo III e vasos sanguíneos calibrosos (SOUZA; VARGAS, 2004; FREEDBERG et al., 2005).

Segundo Cuttle et al. (2004) e Brink et al. (2005), o colágeno é o componente mais abundante da matriz extracelular que promove a resistência tênsil da pele. Brink et al. (2005), afirma que na pele adulta o percentual de colágeno tipo I alcança 90% e 10% colágeno de tipo III. Estima-se que haja uma redução da síntese e da quantidade total de colágeno em cerca de 1% ao ano a partir da vida adulta por área de superfície da pele. A neoformação e deposição desta fibra exercem papel importante na resposta de cicatrização, uma vez que a modulação da migração e proliferação celular garante a eficácia do processo de reparo (CUTTLE et al., 2004).

2.5 Infecções de Pele Causadas por *Staphylococcus* spp.

A pele em seu estado estrutural íntegro é uma barreira anatômica eficaz contra a invasão por microrganismos que provavelmente levariam a infecção. Além de sua função estrutural a pele exerce outras atividades imunológicas inespecíficas de defesa que garantem essa proteção. As infecções na pele ocorrem em consequência de uma ruptura da epiderme, assim, a invasão da derme e do tecido subcutâneo mecanismos inflamatórios são ativados como resposta à invasão. Uma vez estabelecida a infecção se propaga através de espaços teciduais por ação de hialuronidases, fibrinolisinases e lectinases e não é possível o isolamento dos microrganismos responsáveis pelas infecções, sugerindo que muitas das alterações clínicas locais são mediadas por citocinas e/ou toxinas (TSAO, 1999; LEÇA; CARVALHO, 2015).

Muito poucos microrganismos podem penetrar na pele intacta, mas muitas bactérias oportunistas são encontrados entre a microbiota normal. As infecções da pele por estafilococos são muito comuns, porque os organismos estão quase sempre presentes nela. Essa microbiota cutânea é composta por estafilococos coagulase negativos, difteróides aeróbicos (*Corynebacterium* spp.) e difteróides anaeróbicos (*Propionibacterium acnes*). Em casos graves de infecções há, também, a propensão de invasão de vasos linfáticos e sanguíneos, resultando em linfangite, linfadenite, bacteriemia e septicemia (FITZPATRICK, 1998; BLACK, 2002).

Os principais causadores de infecção são os microrganismos que colonizam de forma ocasional e transitoriamente a pele. Entre eles pode ser destacado o *S. aureus*, o mais patogénico do gênero. Na maioria dos estudos efetuados essa bactéria foi o agente mais frequentemente isolado nas infecções da pele e tecidos moles, seguido de *Streptococcus pyogenes*. A agressividade de algumas estirpes e mecanismos imunológicos mediados por superantígenos podem determinar a evolução para quadros clínicos muito graves, como o choque tóxico estreptocócico e estafilocócico (BLACK, 2002; LEÇA; CARVALHO, 2015). Além disso, algumas cepas podem causar septicemia com grande risco à vida, e outras produzem enterotoxinas que afetam o trato gastrointestinal (TORTORA et al., 2010).

As infecções ocorrem quando esses microrganismos invadem a pele por meio do folículo piloso promovendo a foliculite também conhecido por pústula que podem tornar-se grande e serem extremamente dolorosas. Quando a infecção é maior e mais profunda, com aparecimento de uma secreção pulverulenta ocorre o abscesso, quando externo denomina-se furúnculo. Uma disseminação para o pescoço e parte superior das costas, produz uma lesão compacta denominada carbúnculo (BLACK, 2002).

Segundo Fitzpatrick et al. (1998) e Tsao et al. (1999), com a instalação da infecção, os pacientes sentem dor, edema, eritema e calor locais, associados a variáveis graus de sintomas sistêmicos, resultantes da disseminação da infecção: indisposição, anorexia, febre e calafrios. Em alguns indivíduos, sintomas sistêmicos podem anteceder os sinais e sintomas locais da infecção.

O eritema, no sítio da infecção, rapidamente se intensifica e amplia, e a dor torna-se marcante.

2.6 Cicatrização

Os mecanismos que envolvem a recuperação de tecidos ou de cicatrização demandam um processamento fisiológico elaborado, e desencadeiam uma cascata de eventos, com fases bem definidas como inflamação, proliferação e remodelagem. Tais mecanismos que envolvem além de células e moléculas é um processo dinâmico de fenômenos bioquímicos e fisiológicos, comportando-se mutuamente de forma harmoniosa, a fim de garantir uma repavimentação tissular eficiente (MANDELBAUM et al., 2014).

De acordo com Stevens e Lowe (2002), a cicatrização ou repavimentação tissular é um processo pelo qual o tecido lesado é substituído por tecido conjuntivo vascularizado independente da lesão, tenha ela sido traumática ou necrótica e o reparo tecidual poderá ocorrer de duas diferentes formas: pela reconstituição do tecido com reposição da atividade funcional do mesmo, ou por cicatrização, com o estabelecimento da homeostasia do tecido, mas com perda de sua funcionalidade.

Os traumas podem danificar a derme de forma completa ou incompleta e até mesmo chegar a atingir todo o órgão, até o tecido celular subcutâneo. Os traumas que provocam danos na derme completa e atingem o tecido subcutâneo denominam-se feridas de espessura total. Nesse caso há necessidade de formação de novo tecido (tecido de granulação). A reparação de tecido ocorre sobre as influências de diversos fatores como localização anatômica, tipo de pele, fase de vida do indivíduo, podendo variar de jovens para adultos (JULÍA et al., 1992).

2.6.1 Fases do Processo de Cicatrização

Fazio et al. (2000), afirma que alguns autores classificam as fases dos processos de cicatrização em: fase de coagulação, inflamação, proliferativa, de contração da ferida e de remodelação e ainda que, em determinado momento, as fases ocorrem simultaneamente, o que permite o sucesso da cicatrização.

2.6.1.1 Coagulação

A fase inicial do processo de cicatrização depende da atividade plaquetária, da cascata de coagulação e ocorre logo após o surgimento da lesão. Várias substâncias como proteínas adesivas, fatores de crescimento e proteases são liberadas e acabam iniciando a ativação das fases seguintes. Na coagulação, ingressam na ferida, fibroblastos, células endoteliais e queratinócitos, por meio da matriz provisória oferecida pela formação do coágulo que, é importante também para o fechamento da ferida (BROUGHTON, 2006).

2.6.1.2 Inflamação

Inúmeros mediadores químicos e células inflamatórias como os leucócitos polimorfonucleares (PMN), os macrófagos e linfócitos são requisitados nesta fase. Os PMN promovem a fagocitose das bactérias no local da infecção, durante o tempo que permanecem no local, um período que varia de três a cinco dias. O macrófago é a célula inflamatória mais importante dessa fase, permanecendo no local da infecção do terceiro ao décimo dia fagocitando bactérias, removendo corpos estranhos e direcionando o desenvolvimento do tecido de granulação. Após o período de uma semana os linfócitos aparecem na ferida e exercem importante influência sobre os macrófagos (PETROVA, 1992; BROUGHTON, 2006).

A fibronectina, sintetizada por uma variedade de células como fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais, também exerce função muito importante nos processos da fase inflamatória. Por meio de sua adesão ao

colágeno e outros tipos celulares ela consolida o coágulo de fibrina, as células e os componentes da matriz. Sua participação também se dá através da opsonização e fagocitose de corpos estranhos e bactérias (CLARK, 1980; BROUGHTON, 2006).

2.6.1.3 Proliferação

O início desta fase ocorre ao redor do quarto dia após a lesão e se estende aproximadamente até o término da segunda semana. A epitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno são etapas decorrentes da fase proliferativa. Se a membrana basal estiver intacta, as células epiteliais migram em direção superior, e as camadas normais da epiderme são restauradas em três dias. Se a membrana basal for lesada, as células epiteliais das bordas da ferida começam a proliferar na tentativa de restabelecer a barreira protetora (LAWRENCE; DIEGELMANN, 1994). O fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) estimula a angiogênese que é caracterizada pela migração de células endoteliais e formação de capilares, essencial para a cicatrização adequada. Na etapa final da fase proliferativa ocorre a formação de tecido de granulação que têm como células primordiais, os fibroblastos e as células endoteliais. Após ativação, os fibroblastos, que saem do estado de quiescência, migram dos tecidos vizinhos para a ferida (BROUGHTON, 2006).

2.6.1.4 Contração da ferida

Nesta etapa é liberado o fator de crescimento de transformação beta (TGF- β) pelas plaquetas, que estimula os fibroblastos a produzirem colágeno tipo I e se transformarem em miofibroblastos, que promovem a contração da ferida. Entre os fatores de crescimento envolvidos no processo cicatricial podem ser citados o Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PGDF), que induz a proliferação celular, a quimiotaxia e a síntese matricial; o fator de crescimento epidérmico, que estimula a epitelização; o fator transformador alfa,

responsável pela angiogênese e pela epitelização; o fator de crescimento fibroblástico, que estimula a proliferação celular e angiogênese e o fator transformador beta, responsável pelo aumento da síntese matricial (WITTE; BARBUL, 1997).

2.6.1.5 Remodelação

A deposição de colágeno, de maneira organizada, é a característica mais importante da fase de remodelação, mais importante clinicamente. O colágeno produzido inicialmente (colágeno tipo III) é mais fino do que o colágeno presente na pele normal, e tem orientação paralela à pele. O colágeno inicial é reabsorvido e um colágeno mais espesso é produzido e depositado ao longo das linhas de tensão com o decorrer do tempo o que significa maior força tênsil da ferida. A reorganização da nova matriz é um processo importante da cicatrização. Células fibroblásticas e leucocitárias secretam collagenases promovendo a lise da matriz antiga. Ocorre o sucesso da cicatrização quando há equilíbrio entre a síntese da nova matriz e a lise da matriz antiga, ocorrendo sucesso quando a deposição é maior. Mesmo após um longo período de tempo a ferida apresentará um colágeno menos organizado do que o da pele original, e a força tênsil jamais será a mesma, atingindo uma eficiência em torno de 80% após três meses de reconstituição (BROUGHTON, 2006).

2.7 Fitoterápicos e *Psidium guajava* L.

O uso de plantas com finalidade terapêutica têm sido um recurso humano datado de 460 a.C. Contudo, as primeiras informações sistemáticas sobre como medicamentos naturais são da Índia antiga. O conhecimento tradicional sobre esse recurso terapêutico pode servir à geração de tecnologias para o desenvolvimento de novos recursos farmacológicos de baixo custo e menor dano residual ao homem (RUDDER, 2002; WANZALA et al., 2005)

Psidium guajava L. é uma árvore de pequeno, porte pertencente à família das *Myrtaceae*, com caule tortuoso de muitas ramificações, recoberto por cascas finas aderentes (CARVALHO et al., 2002). Conhecida como “goiabeira”, é um arbusto ou árvore, podendo atingir 8 m de altura, sendo encontrada desde o México até São Paulo. Comumente conhecida como guayabo na Espanha e guava nos Estados Unidos, é frequentemente cultivada como um alimento por ser uma fruta agradável, que também é utilizada na produção de geleias (LOZOYA et al., 2002), sorvetes, sucos, vinhos, queijos e outros. A fruta é uma baga, que consiste em um pericarpo e uma polpa com numerosas pequenas sementes (ESCRIG et al., 2001). Existem dois tipos mais comuns, a vermelha e a branca, sendo a vermelha mais saborosa e nutritiva. Pode ser cultivada a partir das sementes. Possui quantidade regular de ácidos, açúcares, e pectinas e, de acordo com Carvalho et al. (2002), seus principais constituintes são: taninos, flavonóides, óleos essenciais, álcoois sesquiterpenóides e ácidos tripernóides.

Em estudos realizados com extratos aquosos obtidos por infusão de folhas de *P. guajava* foram constatados efeitos de bio-proteção contra radicais livres, analgésico, sedativos, depressor do sistema nervoso central e antitussígeno (TONA, 1998). Essas atividades foram atribuídas à presença de flavonóides, tais como quercetina, canferol e miricetina (ALMEIDA et al., 2006). Segundo Carvalho et al (2002), existe uma relativa segurança para o uso terapêutico de *P. guajava*, comprovado pelo resultado do estudo de toxicidade aguda e de Dose Letal 50 do extrato hidroalcoólico seco do caule e da folha (779,17 mg/kg).

Os extratos de folhas de goiaba (etanol:água) apresentaram maior atividade antibacteriana quando comparados com os extratos aquosos, em ensaio de microdiluição em caldo. Os extratos aquosos das folhas, raízes e cascas do caule foram ativos contra as bactérias Gram-positivas de *S. aureus* (GNAN; DEMELLO, 1999) e *Bacillus subtilis*, e foram inativas contra as bactérias Gram-negativas *E. coli* e *P. aeruginosa* (SANCHES et al, 2005).

Menezes et al. (2004), comprovaram em seu trabalho a inibição do crescimento bacteriano de cepas padrão de *S. aureus* ATCC 25923 utilizando o extrato de folhas de *P. guajava*. Ojewoule (2006) pesquisou os efeitos anti-

inflamatórios e analgésicos do extrato aquoso das folhas de *P. guajava* em ratos, utilizando edema induzido por albumina de ovo, enquanto o efeito analgésico foi avaliado em modelos de testes de dor em ratos por queimaduras térmica e química, com o extrato administrado por via oral. O autor observou efeito anti-inflamatório e analgésico significativo e dose-dependente tendo como controle o diclofenaco e morfina para comparação respectivamente anti-inflamatória e analgésica. Dessa forma, a avaliação da atividade cicatrizante e o controle de infecção de *Staphylococcus* mutantes, com extrato de *P. guajava*, utilizando como modelo experimental protocolo de incisão cirúrgica e desenvolvimento de infecção epitelial em ratos, pode promover uma alternativa ao tratamento de infecções promovidas por *S. aureus* *Meticilina Resistente* (MRSA).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, K. C. et al. Efeito citotóxico do infuso aquoso de *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 87, n. 2, p. 60-62, 2006.

AMÂNCIO, A. C. G. **Efeitos do ultra-som terapêutico na integração de enxertos e pele total em coelhos**. Universidade de São Paulo, 2003, 68p (Dissertação de Mestrado em Bioengenharia) – Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de São Carlos.

ARAUJO, B. A. C.; OLIVEIRA, A. L.; SANTOS FILHO, L. Isolamento de amostras multirresistentes de *Staphylococcus aureus* em estetoscópios usados no ambiente hospitalar. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 32, n. 4, p. 285-288, 2000.

ARBUTHNOTT, J. P.; COLEMAN, D. C.; AZAVEDO, J. S. Staphylococcal toxins in human disease. **Journal of Applied Microbiology**, v.19, n. 1, p. 101-107, 1990.

ARIDOGAN, B. C.; BAYDAR, H.; KAYA, S. et al. Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. **Archives Pharmacal Research**, v. 25: n. 6, p. 860-864, 2002.

ARNOLD, J. R. H. L. et al. **A pele: estrutura básica e função. Doenças básicas da pele de Andrews**. 8 ed. São Paulo: Manole LTDA, 1994, p.1-14.

AUSTYN, J. M. Dendritic cells. **Curr Opin Hematol**, v. 5, n. 1, p. 3-15, 1998.

- 827 BASTOS, C. P. **Multiplex PCR para identificação de *S. aureus*, *S.***
 828 ***intermedius* e *S. hyicus*.** Rio Grande do Sul, 2008, 53f. (Dissertação) –
 829 Universidade Federal de Pelotas.
- 830 BLACK, J. G. **Microbiologia: Fundamentos e Perspectivas.** 4. ed. Rio de
 831 Janeiro: Guanabara, 2002.
- 832 BORANIC, M. et al. Stanica Kultura koznih: primjena u plasticnoj kirurgiji
 833 istrazivanju laboratorijskom i. [Cultura de células da pele: utilização em cirurgia
 834 plástica e estudos de laboratório]. **Lijec Vjesn**, v. 121, n. 4, p. 137-43, 1999.
- 835 BRINK, H. E. Influence of serum on adult and fetal dermal fibroblast migration,
 836 adhesion, and collagen expression. **In Vitro Cellular & Developmental**
 837 **Biology**, v. 41, n. 1, p. 252-57, 2005.
- 838 BROUGHTON, G. et al. The basic science of wound healing. **Plastic and**
 839 **Reconstructive Surgery**, v. 117, suppl. 7, p. 12s-34s, 2006.
- 840 BRUCH-GERHARZ, D. et al. Nitric oxide in human skin: current status and
 841 future prospects. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 110, n. 1, p. 1-7,
 842 1998.
- 843 CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory
 844 guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of**
 845 **Medical and Biological Research**, v. 33, n. 1, p.179-189, 2000.
- 846 CARVALHO, A. A. T. et al. Estudos toxicológicos do extrato hidroalcoólico de
 847 *Psidium guajava* Linn. **Revista Brasileira Ciências da Saúde**, v. 6, n. 1, p. 43-
 848 50, 2002.
- 849 CHARTON-BAIN, M. C. et al. Reduced number of Langerhans cells in
 850 oesophageal mucosa from AIDS patients. **Histopatology**, v. 34, n. 1, p. 399-
 851 404, 1999.
- 852 CLARK, R. A. R. Potential roles of fibronectin in cutaneous wound repair.
 853 **Archives of Dermatology**, v. 124, n. 2, p. 201-206, 1998.
- 854 CLONTS, L. Como evitar a formação de biofilmes. **Revista Controle de**
 855 **Contaminação**, v. 109, n. 1, p. 50-56, 2008.
- 856 CUTTLE L. Collagen in the scarless fetal skin wound: detection with picosirius-
 857 polarization. **Wound repair regeneration**, v. 12, n. 3, p. 374-83, 2004.
- 858 ESCRIG A. J. et al. Guava fruit (*P. guajava* L.) as a new source of antioxidante
 859 dietary fi ber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p.
 860 5489-5493, 2001.

- 861 EVANS, F. J. The use of plants products as tools to study mechanisms of drug
862 action. **Journal of the Brazilian Association for the Advancement of**
863 **Science**, v. 48, n. 4, p. 223-226, 1996.
- 864 FARIAS, M. R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In:
865 SIMÕES, C. M. O, et al (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**.
866 5 ed. Ver. Ampl. Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 2003, cap. 12.
- 867 FARMACOPEIA BRASILEIRA. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 2002. p. 198.
- 868 FAZIO, M. J. et al. **Cicatrização de feridas**. In: Coleman III WP, Hanke CW, Alt
869 TH, Asken S. Cirurgia Cosmética - Princípios e Técnicas. 2.ed. Rio de Janeiro:
870 Revinter, 2000. p. 23-28
- 871 FIRMINO, I. C. L. **Infecções de pele e partes moles: proposta de protocolo**
872 **de atendimento em unidade pediátrica**. Brasília, 2010, 65p. (Monografia de
873 Especialização) – Secretaria do Estado de Saúde do Distrito Federal.
- 874 FITZPATRICK T. B. **Infecções bacterianas sistêmicas**. In: Dermatologia:
875 Atlas e texto. 3a ed. São Paulo: McGraw Hill. p. 622-678, 1998.
- 876 FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAFF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São
877 Paulo: Atheneu, 2000.
- 878 FRAZIER, W. C; WESHOFF, D. C. **Microbiologia de los Alimentos**. 4. ed.
879 Zaragoza: Acribia, 2000.
- 880 FREEDBERG, I. M. et al. **Fitzpatrick – Tratado de Dermatologia**. 5 ed. Rio de
881 Janeiro: Revinter, 2005. p. 88-259.
- 882 FREITAS, D. B. **Atividade antimicrobiana de fluorquinolonas e ação sobre**
883 **plasmídeos em amostras de Staphylococcus aureus humanas e bovinas**.
884 João Pessoa. 85p, 2003. (Mestrado) – CCEN/UFPB.
- 885 GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Tegumento**. In: GARTNER, L. P.; HIAT, J. L.
886 Tratado de Histologia. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 265-
887 279.
- 888 GIAMMARINARO, P. et al. Development of a new oligonucleotide array to
889 identify Staphylococcal strains at species level. **Journal of**
890 **Clinical Microbiology**, v. 43, n. 8, p. 3673-3680, 2005.
- 891 GNAN, S. O.; DEMELLO, M. T. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by aqueous
892 Goiaba extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 68, n. 3, p. 103-108,
893 1999.

- 894 GOMES, M. J. P. **Gênero *Staphylococcus* spp.** Disponível em:
895 <<http://www.ufrgs.br/labacvet/files/G%C3%AAnero%20Staphylococcus%20spp>
896 %204-2015_0.pdf> Acesso em: 21 de out, 2015.
- 897 HOOSEN. Programa Estadual de DST/AIDS-SP. Sífilis congênita: um desafio
898 para a saúde pública. **Boletim Epidemiológico**. São Paulo: Secretaria de
899 Estado da Saúde, 1995.
- 900 JAIN A, AGARWAL J, BANSAL S. Prevalence of methicillin-resistant,
901 coagulase-negative staphylococci in neonatal intensive care units: findings from
902 a tertiary care hospital in India. **Journal Medical Microbiology**, v. 53, n.1, p.
903 941-944, 2004.
- 904 JAY, J. M. **Modern Food Microbiology**. London: Chapman & Hall, 2005.
- 905 JULÍA, V. et al. Características de la cicatrización de las heridas en el período
906 fetal. **Cirugía Pediátrica**, v. 5, n. 3, p. 117-21, 1992
- 907 JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 12 ed. São Paulo:
908 Guanabara-Koogan; 2013. p.46-66.
- 909 KLOOS WE, BANNERMAN TL. Update on clinical significance of coagulase
910 negative staphylococci. **Journal Clinical Microbiology**, v. 7, n. 1, p. 117-140,
911 1994.
- 912 KLOSS, W. E.; LAMBE, J. R. *Staphylococcus*. In: **BALOWS, A. Manual of**
913 **Clinical Microbiology**. 5. ed. Washington: American Society for Microbiology,
914 1991, 1500 p.
- 915 KNÖBL, T. et al. **Investigação molecular dos fatores de virulência de**
916 ***Escherichia coli* isoladas de fezes de psitacídeos mantidos em cativeiro.**
917 In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA VETERINÁRIOS DE
918 ANIMAIS SELVAGENS – ABRAVAS, 15. Águas de São Pedro. 2006, Anais.
919 Águas de São Pedro: Associação Brasileira dos Veterinários de Animais
920 Selvagens, 2006.
- 921 KONEMAN, E.W. et al. **Cocos Gram-Positivos: Parte I: Estafilococos e**
922 **Microrganismos Relacionados**. In: KONEMAN, E.W. et al. Diagnóstico
923 Microbiológico: Texto e Atlas Colorido. 5. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001, p.
924 551- 588.
- 925 LARREGINA A. T, FALO L. D, Jr. **Dendritic Cells in context of skin**
926 **immunity**, In: Dendritic Cells: Bioology and clinical applications, ed. Lotze MT,
927 Thomson AW (Academic Press, San Diego), 2001, p.301-306.
- 928 LAWRENCE, W. T.; DIEGELMANN, R. F. Growth factors in wound healing.
929 **Clinics in Dermatology**, v. 12, n. 1, p. 157-169, 1994.

- 930 LEÇA, A.; CARVALHO, L. **Infecções de pele e tecidos moles**. Disponível
 931 em:<[http://www.spp.pt/UserFiles/file/Protocolos_SPP/Infeccoes_da_Pele_e_Te](http://www.spp.pt/UserFiles/file/Protocolos_SPP/Infeccoes_da_Pele_e_Tecidos_Moles.pdf)
 932 [cidos_Moles.pdf](http://www.spp.pt/UserFiles/file/Protocolos_SPP/Infeccoes_da_Pele_e_Tecidos_Moles.pdf)> Acesso em: 23 de out. 2015.
- 933 LINA G. Toxin involvement in staphylococcal scalded skin syndrome. **Clinical**
 934 **Infectious Disease**, v. 25, n. 6, p. 1369-1373, 1997.
- 935 LINS, R. D. A, et al. Células dendríticas: origem, distribuição, morfologia,
 936 estrutura, atividade funcional e métodos de identificação – uma revisão.
 937 **Revista Brasileira de Patologia Oral**, v. 2, n. 3, p. 29-35, 2003.
- 938 LOZOYA, X. et al. Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium*
 939 *guajava* folia in the treatment of acute diarrheic disease. **Journal of**
 940 **Ethnopharmacology**, v. 83, n. 1, p. 19-24, 2002.
- 941 MANDELBAUM, S. H. Cicatrization: currents concepts and auxiliary resources
 942 – Part I. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 78, n. 4, p. 393-410, 2003.
- 943 MARANAN, M.C. et al. Antimicrobial resistance in Staphylococci: epidemiology,
 944 molecular mechanisms and clinical relevance. **Infectious Disease Clinics of**
 945 **North America**, v. 11, n. 4, p. 813-49, 1997.
- 946 MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas**
 947 **Medicinais**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2000. 220p.
- 948 MENEZES, M. C. et al. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de
 949 extratos de plantas brasileiras sobre bactérias isoladas da cavidade de cães.
 950 **Revista Universidade Rural**, v. 24, n. 2, p. 141-144, 2004.
- 951 MILLEZI, A. F. **Ação dos óleos essenciais sobre biofilmes formados por**
 952 ***Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli***. Minas Gerais, 2012, 113f.
 953 (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras (Revisão).
- 954 MIYAKE, M. A. et al. Inquérito, sobre uso de plantas medicinais para
 955 tratamento de afecções otorrinolaringológicas entre pacientes de um hospital
 956 pública terciário. **Caderno de Debates da RBORL**, v. 70, n. 1, p. 43-55, 2004.
- 957 MOODLEY, J. A. A. Sexually transmitted diseases and urinary tract infections in
 958 pregnancy. **In: Current Opinion in Infectious Diseases**. v. 9, n. 1, p. 34-36,
 959 1996.
- 960 NASCIMENTO, E. D. **Resistência de bactérias Gram-positivas e Gram-**
 961 **negativas aos antimicrobianos β -lactâmicos**. Monografia (Curso de
 962 Especialização em Microbiologia) – Universidade Federal Rural de
 963 Pernambuco, Recife, 2004.

- 964 NESTLÉ, F. O. et al. Characterization of dermal dendritic cells obtained from
965 normal human skin reveals phenotypic and functionally distinctive subsets.
966 **Journal of Immunology**, v. 151, n. 1, p. 6535-6545, 1993.
- 967 OJEWOLE, J. A. Hypoglycaemic and hypotensive effects of *Psidium guajava*
968 Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract. **Methods and Findings in**
969 **Experimental and Clinical Pharmacology**, v. 27, n. 10, p. 689-695, 2005.
- 970 PAPP-WALLACE, K. M., et al. Carbapenems: Past, Present, and Future.
971 **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n.11, pp. 4943-4960, 2011.
- 972 PATRICK, G. L. An Introduction to Medicinal Chemistry, Oxford University
973 Press. New York, 2005, cap.16. In: Patrick, G. L. **An Introduction to Medicinal**
974 **Chemistry**, Oxford University Press. New York, 1995, cap. 10.
- 975 PETROVA, M. B. Morfofunktional'nye osobennosti zazhivleniia kozhnoi rany u
976 krys pri vozdeistvii nizkointensivnogo lazernogo izlucheniia. **Morfologiya**, v.
977 102, n. 6, p. 112-121, 1992.
- 978 PHILLIPSON, J. D. Natural products as drugs. Transactions of the Royal
979 Society **Tropical Medicine and Hygiene**, v. 88, n. 1, p. 17-19, 1994.
- 980 RAVEL, R. **Laboratório Clínico: Aplicações clínicas dos dados**
981 **laboratoriais**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A, 1997.
- 982 REDHER, J. et al. Model of human epidermis reconstructed in vitro with
983 keratinocytes and melanocytes on dead de-epidermized human dermis. **São**
984 **Paulo Medical Journal**, v. 122, n. 1, p. 22-25, 2004.
- 985 RODRIGUES, P. R. C. et al. O uso das cefalosporinas na clínica de pequenos
986 animais: breve revisão. **Veterinária em Foco**, v. 4, n. 2, p. 143-158, 2007.
- 987 RUDDER, M. C. **Guia Compacto das plantas medicinais**. São Paulo: Rideel,
988 2002, 478p.
- 989 SANCHES, N. R. et al. An evaluation of antibacterial activities of *Psidium*
990 *guajava* L. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 3, p. 429-
991 436, 2005.
- 992 SANTOS, A. **Pesquisa de portadores de *Staphylococcus aureus* nas**
993 **fossas nasais de indivíduos e análise do perfil de sensibilidade aos**
994 **antimicrobianos**. Carazinho, 2008. 22f. (Curso de Biomedicina) –
995 Universidade Luterana do Brasil - ULBRA.

996

- 997 SHITTU A.J, LIN J, MORRISON D, KOLAWOLE D. Isolation and molecular
998 characterization of multiresistant *Staphylococcus sciuri* and *Staphylococcus*
999 *haemolyticus* associated with skin and soft-tissue infections. **Journal Medical**
1000 **Microbiology**, 53, n. 1, 5-51, 2004.
- 1001 STEPANOVIC S, DAKIC I, DJUKIC S, LOZUK B, SVABIC-VLAHOVIC M, ET
1002 AL. Surgical wound infection associated with *Staphylococcus sciuri*.
1003 **Scandinavian Journal Infectious Diseases**, v. 34, n. 1, p. 685-686, 2002.
- 1004 SILVA, J. O. et al. Caracterização físico-químico do extrato fluído e seco por
1005 nebulização de *Sympytmum officinale* L. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v.
1006 16, n. 2, 2006.
- 1007 SOUSA, M. A. J.; VARGAS, T. J. S. **Anatomia, fisiologia e histologia da**
1008 **pele**. In: KEDE, M. P. V.; SABATOVICH, O. Dermatologia estética. São Paulo:
1009 Atheneu, cap. 1, 2004.
- 1010 SOUTO, L. R. M. et al. Model for human skin reconstructed in vitro composed
1011 of associated dermis and epidermis. **São Paulo Medical Journal**, v. 124, n. 2,
1012 p. 71-76, 2006.
- 1013 SOUZA JÚNIOR, E. E.; DUARTE, J. B.; CHAVES, L. J. Estabilidade
1014 fenotípica em goiabeira (*Psidium guajava* L.) com ênfase em peso de fruto,
1015 precocidade e período de colheita. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 32, n.
1016 2, p. 97-103, 2002.
- 1017 STEVENS A.; LOWE, J. **Respostas teciduais ao dano**. In: Stevens A, Lowe J.
1018 Patologia. 2ª ed. São Paulo: Manole; 2002. p. 49-50.
- 1019 TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos**. 3ª
1020 ed., São Paulo: Atheneu, 2001, 1216 p.
- 1021 TENOVER, F. C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **American**
1022 **Journal of Medicine**, v. 119, s. 6A, p. 3-10, 2006.
- 1023 THULER, L. C. S. et al. Determinants of mortality in oncology patients colonized
1024 or infected with *Staphylococcus aureus*. **Revista Hospital das Clínicas**, v. 54,
1025 n. 2, p. 47-52, 1999.
- 1026 TONA, L. Antiamoebic and phytochemical screening of some Congolese
1027 medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 61, n. 1, p. 57-65, 1998.
- 1028 TORTORA, G. J. et al. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- 1029 TRABULSI, L. R. et al. **Microbiologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2002.

- 1030 TSAO H. et al. **Soft tissue Infections: erysipelas, cellulitis and gangrenous**
1031 **cellulites**. In: FREEDBERG I. M. et al. Dermatology in general medicine. 5. ed.
1032 New York: McGraw Hill, p. 2213-2231, 1999.
- 1033 UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – UNIVESP. **Panorama histórico da**
1034 **classificação dos seres vivos e os grandes grupos dentro da proposta**
1035 **atual de classificação.** Disponível em:
1036 <[http://midia.atp.usp.br/impressos/lic/modulo03/diversidade_biologica_filogenia](http://midia.atp.usp.br/impressos/lic/modulo03/diversidade_biologica_filogenia_PLC0019/Bio_Filogenia_top01.pdf)
1037 [_PLC0019/Bio_Filogenia_top01.pdf](http://midia.atp.usp.br/impressos/lic/modulo03/diversidade_biologica_filogenia_PLC0019/Bio_Filogenia_top01.pdf)> Acesso em: 20 out. 2015.
- 1038 VIEIRA, R. H. S. F. et al. Microbicidal effect of medicinal plant extracts (Psidium
1039 guajava Linn. and Carica papaya Linn.) upon bacteria isolated from fish muscle
1040 and known to induce diarrhea in children. **Revista do Instituto de Medicina**
1041 **Tropical**, v. 43, n. 1, p. 145-148, 2001.
- 1042 WANZALA, W. et al. Ethnoveterinary medicine: a critical review of its evolution,
1043 perception, understanding and the way forward. **Livestock Research for Rural**
1044 **Development**, v. 17, n. 5, p. 20-26, 2005.
- 1045 WITTE, M. B.; BARBUL, A. General principles of wound healing. **Surgical**
1046 **Clinics of North America**, v. 77, n. 3, p. 509-528, 1997.
- 1047 WORLD Health Organization. **General Guidelines for Methodologies on**
1048 **Research Evaluation of Traditional Medicines.** Geneve: WHO, 2000.
- 1049 YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e
1050 fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e
1051 fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n.1, p. 48-56, 2001.
- 1052
1053
1054
1055
1056
1057
1058
1059
1060
1061
1062
1063
1064
1065

Capítulo II

Ação cicatrizante e controle de crescimento de estirpes de *Staphylococcus* spp. com perfil de resistência pelo extrato de *Psidium guajava* L.

Adriano Barbosa da Silva¹, Andressa dos Anjos Lima², Hilda Michelly Paiva dos Santos¹, Cintia Giselle Martins Ferreira¹, Álvaro Aguiar Coelho Teixeira¹ *

¹*Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, Brasil*

²*Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Biologia, Recife, Brasil*

*Autor para correspondência: UFRPE-DMFA. Av. Dom Manoel de Medeiros s/n Dois

Irmãos-Recife-PE-Brazil. CEP 52171-900. Tel. +55 81 33206389

E-mail: teixeira.alvaro@ig.com.br

RESUMO

Objetivou-se avaliar a atividade cicatrizante e o controle de infecção do extrato etanólico de *Psidium guajava* frente a estirpes da espécie *Staphylococcus sciuri* (SsI, SsII, SsIII e SsIV) e *Staphylococcus xylosus* (Sx) em modelo experimental com protocolos de incisão cirúrgica. A atividade antimicrobiana e o perfil de resistência a antibióticos foram verificados pelo método de disco-difusão com discos de papel de filtro e discos padrão dos antibióticos respectivamente, comparados aos diâmetros de halo de inibição e interpretados de acordo com os critérios preconizados pelo Clinical and Laboratory Standards Institute. A toxicidade do extrato foi avaliada pelo método DL-50, o controle de infecção e cicatrização foram realizados em ratos Wistar. Todas as estirpes se mostraram sensíveis ao extrato de *P. guajava* que, em comparação com os antibióticos Penicilina G e Oxacilina foi mais eficientes. A diferença estatística significativa no teste de Kruskal-Wallis ocorreu apenas entre os tratamentos 10-900 µL/mL para as estirpes SsI, SsII, Sx e SsIV e entre 10-330 µL/mL para a estirpe SsII. Foram considerados tóxicos os tratamentos de 650 e 900 µL/mL com mais de 50% dos náuplios mortos após 24 h. A análise histoquímica mostrou reepitelização com fibras colágenas mais densas no grupo de ratos tratados com o extrato. Diante disso, sugere-se que os compostos químicos encontrados nas folhas de *P. guajava* poderão representar grande potencial antimicrobiano e cicatrizante na constituição de novos fármacos.

Palavra-chave: *Psidium guajava*, goiaba, *Staphylococcus*, resistência microbiana, cicatrização

1111 1. Introdução

1112 A Organização Mundial de Saúde (OMS) já catalogou mais de 20.000 espécies de
1113 plantas medicinais com propriedades terapêuticas para patologias como pneumonia,
1114 úlcera, diarreia, bronquite, constipações e doenças do trato respiratório pela utilização
1115 de óleos essenciais extraídos das plantas, obtidos a partir de diferentes órgãos vegetais
1116 tais como cascas, sementes, flores e folhas (ARIDOGAN et al., 2002).

1117 Os medicamentos obtidos a partir dessas plantas têm sido cada vez mais
1118 reconhecidos pelos pesquisadores como uma alternativa importante aos antibióticos
1119 produzidos industrialmente por seu baixo custo (VIEIRA et al., 2001). No Brasil e em
1120 alguns países da América Latina esses medicamentos são economicamente mais
1121 acessíveis em relação aos medicamentos alopáticos (CARVALHO et al., 2002).

1122 Algumas pesquisas comprovam resultados antimicrobianos de plantas medicinais,
1123 dentre elas, membros da família *Myrtaceae*. Pesquisas científicas vêm comprovando a
1124 eficácia de *Psidium guajava* L. (goiabeira), como recurso terapêutico para certas
1125 patologias (CARVALHO et al., 2002).

1126 *P. guajava* L. é uma árvore de pequeno porte, membro da família *Myrtaceae*,
1127 amplamente distribuída no território nacional. Apresenta caule tortuoso e esgalhado,
1128 recoberto por uma casca fina e aderente, seus principais constituintes fitoquímicos são
1129 taninos, flavonóides, óleos essenciais, álcoois sesquiterpenóides e ácidos triprenóides
1130 (CARVALHO et al., 2002; SCHUCH et al., 2008). Suas folhas secas apresentam 5,5%
1131 de taninos totais, 1% de flavonóides (quercetina) e 0,2% de óleo essencial, constituído
1132 de 15% de β -cariofileno (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2002).

1133 Estudos em ratos por modelos de testes de edema induzido e dor por queimadura
1134 térmica e química comprovaram as atividades anti-inflamatória e analgésica,
1135 respectivamente do extrato aquoso das folhas de *P. guajava* (OJEWOLE, 2006).

Segundo Shittu (2004), a espécie *Staphylococcus scuri* é uma das causas, mas comuns de infecções hospitalares e um importante patógeno de infecções na corrente sanguínea em cuidados intensivos. Hedin e Widerstrom (1998) e Hanberger et al. (2010), afirmam que esta espécie é um membro do grupo dos *Staphylococcus* Coagulase-Negativos (SCN) associados a resistência à múltiplos antimicrobianos, em especial à metilicina.

Staphylococcus xylosus é um comensal comum, habitando geralmente a membrana mucosa e a pele de uma variedade de mamíferos e ocasionalmente em seres humano por meio de formação de biofilme. Em esta espécie seja descrita como não patogénica dentre os *Staphylococcus* vários relatos descrevem infecções oportunistas em animais (BINGEL, 2002; BRADFIELD et al., 1993; JACKSON et al., 2001) e seres humanos (KOKSAL et al., 2009).

De acordo com Okamoto (2010), o extrato glicólico obtido das folhas de goiabeira, com alto teor de taninos e flavonóides, apresentou atividade antimicrobiana com inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* e atividade cicatrizante, verificada histologicamente com evidências de fibroplasia e proliferação vascular.

As atividades antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana já foram comprovadamente apresentadas por flavonóides, encontrados nas folhas de *P. guajava*, interagindo com uma variedade de sistemas enzimáticos e bioquímicos (ACAMPORA et al., 2007).

Com base nos relevantes dados sobre atividade biológica de *P. guajava* o presente estudo avaliou a ação cicatrizante e o controle do crescimento de estirpes de *Staphylococcus* spp. com perfil de resistência em um modelo experimental de desenvolvimento de infecção epitelial utilizando ratos Wistar.

2. Material e Métodos

2.1. Obtenção do Extrato Etanólico de *P. guajava*

As folhas para obtenção do extrato etanólico de *P. guajava* (EEPg) foram coletadas no Campus Dois Irmãos, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE, Brasil, sob as coordenadas 8°00'51.0"S 34°57'02.1"W. O material vegetal foi identificado a partir da comparação com a exsicata nº 12715 do Herbário Sérgio Tavares (UFRPE) que tem como curadora Dr.^a Maria Elizabeth Bandeira-Pedrosa.

As folhas passaram por antissepsia com álcool 70%, foram desidratadas em estufa a 45 °C durante 5 dias. Logo após foram trituradas em triturador de lâminas e solubilizadas em álcool etílico 92.8° INPM (extrator/diluyente) na proporção de 0,2 g/mL. O EEPg final foi obtido após filtração em papel de filtro Whatman nº 1 e esterilização em filtro millipore com membrana de 0,20 µm para as diluições de 10, 50, 120, 210, 330, 400, 480, 530, 650 e 900 µL/mL, utilizadas como tratamentos nos experimentos. O antibiótico comercial Chemitril[®] Injetável 2,5% (Enrofloxacina) e o diluyente foram utilizados como controles positivo e negativo respectivamente.

2.2 Teste de Toxicidade com *Artemia salina* (DL-50)

A avaliação toxicológica do EEPg foi realizada de acordo com o método descrito por Lopes et al. (2002), modificado. O meio para o cultivo das larvas de *A. salina* foi água salgada artificial (3,8 g de NaCl/L de água destilada). As larvas foram utilizadas nos ensaios 24 h após a eclosão em aquário com bomba de aeração, em fase náupilo. Aproximadamente 10 larvas de *A. salina* foram transferidas para 11 tubos de ensaio contendo os tratamentos de 10, 50, 120, 210, 330, 400, 480, 530, 650 e 900 µL/mL nos 10 primeiros tubos e no tubo 11 (controle) contendo o meio para cultivo. O ensaio foi

realizado em triplicata e a contagem dos náupilos mortos e vivos foi realizada após 24 h. Este procedimento foi repetido ao menos três vezes.

2.3 Determinação do Perfil de Resistência de *Staphylococcus sciuri* (S_z) e *Staphylococcus xylosus* (S_x) a Antibióticos

Foram realizados testes para confirmação quanto a morfologia das estirpes (cocos Gram-positivos), pelo método de coloração de Gram (BLACK, 2002), e antibiograma, pelo método de disco-difusão, descrito em NCCLS (2003), para definição do perfil de resistência aos antibióticos, eritromicina (ERI), ácido clavulânico + amoxicilina (AMC), Penicilina G (PG), Ciprofloxacina (CIP), Levofloxacina (LVX), Oxacilina (OXA), Cefalotina (CFL), Norofloxacina (NOR) e Gentamicina (GEN). A avaliação foi realizada pela medida em milímetros, do halo de inibição do crescimento bacteriano, em dois sentidos diametralmente opostos, com o auxílio de um paquímetro e comparados aos diâmetros de halo de inibição, interpretados de acordo com os critérios preconizados pelo Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI (2005).

2.4 Atividade Antiestafilocócica do Extrato de *P. guajava*

Para o estudo da atividade antiestafilocócica *in vitro* e controle de infecção foram utilizadas 4 estirpes da espécie *Staphylococcus sciuri* (S_{sI}, S_{sII}, S_{sIII} e S_{sIV}), 1 *Staphylococcus xylosus* (S_x), todas portadoras de genes caracterizados por expressão de resistência (*mecA*, *seg* e *seh*) à oxacilina e S_{sIII} para oxacilina e penicilina (BATISTA et al., 2008) e 1 cepa padrão *Staphylococcus aureus* (S_a) como controle. As estirpes de *Staphylococcus* foram reativadas em ágar sal manitol a 37±0,5 °C por 24 h. O subcultivo para realização dos testes foi preparado com a transferência das culturas de manutenção (Ágar Mueller Hinton – DIFCO™ (MH) acrescido de NaCl a 4%) para tubos de ensaio contendo MH inclinado e incubado a 37±0,5 °C por 24 h.

1212 As suspensões bacteriológicas das estirpes foram preparadas com solução salina a
1213 0,9% ajustando-se sua densidade de controle de turbidez a partir da solução padrão da
1214 escala 0,5 de McFarland para a absorbância de $A_{620} = 0,10$ em espectrofotômetro,
1215 resultando em uma suspensão contendo aproximadamente de $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ UFC/mL
1216 (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003). Placas de Petri contendo
1217 MH foram inoculadas com swabs saturados nas suspensões, e após secagem por 5
1218 minutos, discos de papel de filtro Watmann nº 1 de 6 mm de diâmetro esterilizados,
1219 saturados com 30 µL dos tratamentos do extrato e controles, foram depositados e
1220 pressionados sobre o meio de cultura com auxílio de pinça em cinco pontos
1221 equidistantes das placas.

1222 A avaliação foi realizada após 24 h de incubação a $35 \pm 0,5$ °C e os resultados
1223 foram comparados aos resultados obtidos para os antibióticos. O delineamento
1224 experimental foi inteiramente casualizado com três repetições por tratamento, os
1225 resultados expressos em milímetros (mm) pela média aritmética do diâmetro dos halos
1226 de inibição, formado ao redor dos discos e a avaliação estatística foi realizada pelo teste
1227 de Kruskal-Wallis, considerados como valores significativos quando o *P* foi menor que
1228 0,05.

1229 2.5 Controle de Infecção e Cicatrização em Ratos Wistar

1231 O estudo de controle de infecção e cicatrização foi desenvolvido no Biotério da
1232 UFRPE e todos os protocolos obedeceram princípios éticos em experimentação animal,
1233 preconizados pela legislação brasileira de animais de experimentação (Lei Federal nº
1234 6.638 -1997). O projeto de pesquisa foi submetido à apreciação e aprovação pela
1235 Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da UFRPE, sub nº do processo
1236 23082.026191/2014-86.

1237 Foram utilizados 20 ratos (*Rattus norvegicus albinus*), da linhagem Wistar,
1238 machos, adultos, com 90 dias e peso médio de 260g, adquiridos no Biotério da UFRPE.
1239 Os animais foram distribuídos de forma aleatória em quatro grupos com 5 animais cada,
1240 sendo dois Grupos Controle (GC): Grupo Controle positivo (GC+) em que foi utilizada
1241 enrofloxacina (5u/dia) e Grupo Controle negativo (GC-) onde foi utilizado o diluente do
1242 extrato; e dois Grupos Experimentais (GE): o Grupo Experimental I (GEI) com extrato
1243 de *P. guajava* (5u/dia) e Grupo Experimentação II sem tratamento (GEII). Foram
1244 identificados, marcados e pesados em balança eletrônica digital.

1245 Os animais foram anestesiados com hidrocloridrato de quetamina (80mg/kg) e
1246 cloridrato de xilazina (20mg/kg). Após anestesia foram colocados sobre prancha
1247 cirúrgica em decúbito ventral. Inicialmente foi realizada a epilação por tração manual
1248 dos pêlos do dorso com extensão de 6 cm². Para realização do procedimento de remoção
1249 do epitélio foi utilizada lâmina de bisturi. Com a lâmina foi incisado um fragmento
1250 cutâneo de 1cm² de diâmetro na área epilada, até exposição da fáscia muscular dorsal. A
1251 hemostasia foi realizada por compressão digital, utilizando-se gaze (MIRRANDA,
1252 2001; GARROS et al., 2006; AMORIM et al., 2006; SCHIRATO et al., 2006).

1253 Após procedimento, foi realizada a inoculação com a suspensão da estirpe Sx. Foi
1254 depositado 100 µL em cada ferida dos animais correspondentes aos seus grupos e
1255 acondicionados em gaiolas de acordo com seus respectivos grupos. A aplicação dos
1256 tratamentos foi realizada após 24 h de inoculação. Os tratamentos foram repetidos
1257 diariamente até completa cicatrização ou fechamento da ferida. Todos os ratos foram
1258 examinados diariamente quanto a sua mobilidade comparados aos dos grupos controle.
1259 Foi realizada avaliação macroscópica da ferida operatória, observando-se a presença ou
1260 ausência de secreção, cicatriz hipertrófica, crosta, necrose e tamanho da ferida residual,
1261 no maior e menor eixo, medidos com paquímetro. A eutanásia de 1 animal de cada

grupo foi realizada nos dias 5, 10, 15, 20 e 25 contados a partir do início dos tratamento. No dia pré-estabelecido, os animais foram sacrificados, mediante dose excessiva de anestésico de quetamina (160 mg/kg), cloridrato de xilazina (40 mg/kg) e tiopental (160 mg/kg).

Após inoculados, os animais foram mantidos em biotério, sob condições controladas de luminosidade e umidade do ar, com água e ração *ad libitum*. Foram observados por 25 dias, sendo analisado o quadro de infecção local, macroscopicamente, através da detecção das características de edema.

As lâminas para avaliação histológica foram preparadas a partir da excisão de 1 cm² da ferida, a partir do centro da lesão, em profundidade até a fáscia muscular. Em seguida o material foi fixado em formol tamponado por 48 h, seccionado transversalmente, desidratado em álcool etílico (concentrações crescentes de 80, 90 e 100% por 20 min cada), diafanizado pelo xilol por 30 min, impregnado e incluídos em parafina histológica. Após 24 horas, os blocos foram cortados em micrótomo do tipo Minot (Leica RM 2035) ajustado para 10 µm. Os cortes assim obtidos foram colocados em lâminas previamente untadas com albumina de Mayer e mantidos em estufa regulada à temperatura de 37 °C, durante 24 horas, para secagem e colagem. Os cortes foram corados pela técnica de Tricômico de Gomori e analisados em microscópio óptico de luz, da marca OLYMPUS BX-49 e fotografados em fotomicroscópio OLYMPUS BX-50.

2.5 Quantificação do Colágeno

As imagens das áreas de cicatrização, coradas pelo tricômico de Gomori, foram capturadas por meio de câmera de Vídeo Sony®, acoplada ao microscópio Olympus® Bx50, as quais foram submetidas ao aplicativo Gimp 2.0 para a quantificação por meio

de Histograma RGB (Red-Green-Blue), o qual se baseia na intensidade de luminescência onde os tons dos pixels da imagem variam de 0 a 255, sendo que o tom 0 representa o escuro absoluto (menor luminescência), enquanto que o tom 255, representa o branco absoluto (maior luminescência) (OBERHOLZER et al., 1996; LEE et al., 2001).

3. Resultados e Discussão

3.1 Confirmação Morfológica e Resistência Microbiana das Estirpes

O perfil morfológico das estirpes SsI, SsII, SsIII, SsIV e Sx foi confirmado como cocos Gram-positivo, células individuais, aos pares e com arranjo em aglomerados de células (Figura 1), como definido para o gênero (GOMES, 2008). A coloração de Gram específica para as estirpes de *Staphylococcus* (Gram-positivos em tonalidade azul-roxo) só foi conseguida neste trabalho após cultivo de reativação em ágar sal manitol por 24 h à 35 ± 2 °C em B.O.D (Biochemical Oxygen Demand).

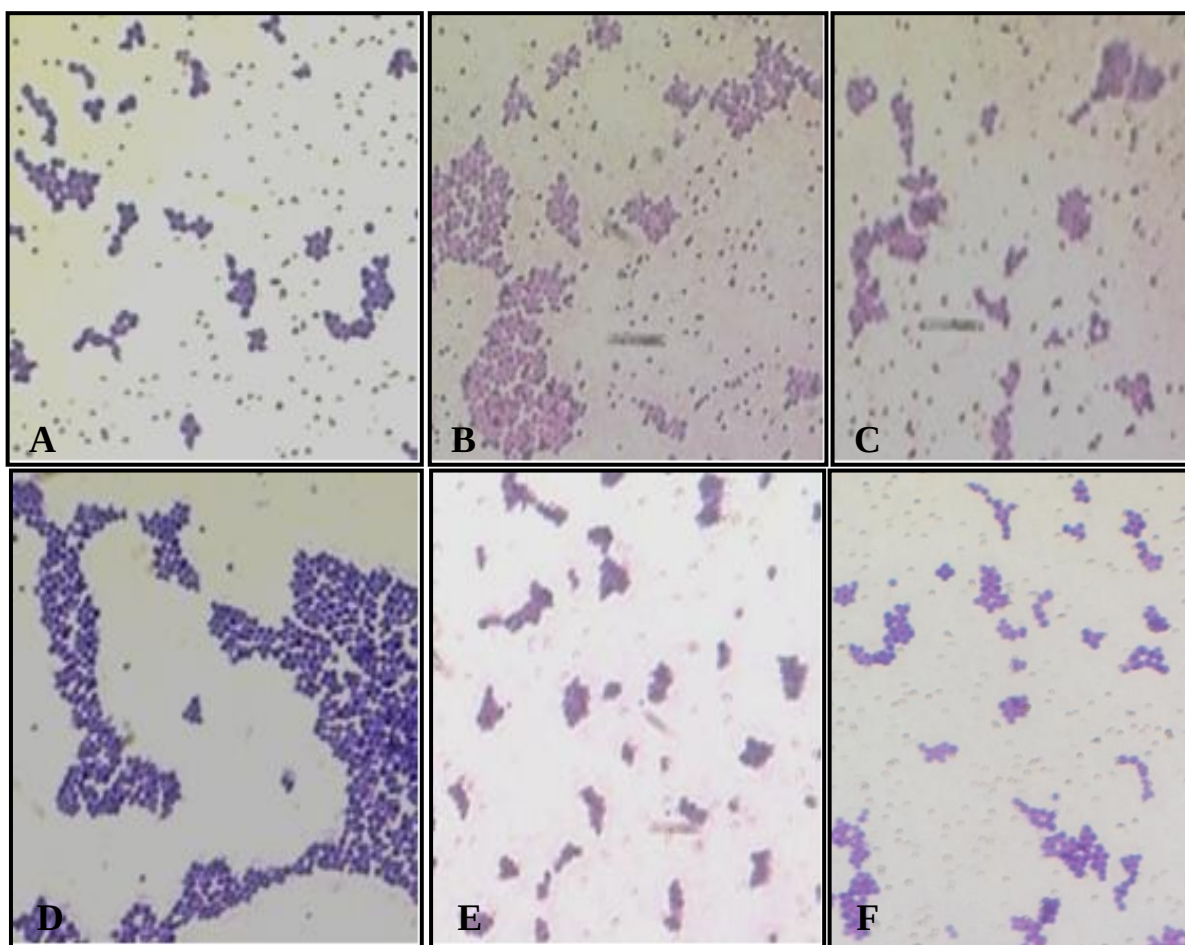


Figura 1: Coloração de Gram das estirpes SsI (A), SsII (B), SsIII (C), SsIV (D), Sx (E) e Sa (F) de *Staphylococcus*.

Todas as estirpes foram confirmadas como resistentes à oxacilina no teste de antibiograma, no entanto, SsIII, notificada como resistente à penicilina segundo Batista et al. (2008), foi caracterizada, nesta pesquisa, como sensível, com halo de inibição de 30 mm para penicilina G (Tabela 1). Kuchenbecker et al. (2008), encontraram um percentual (30,2%) de cepas de *S. aureus* resistentes à penicilina com número amostral de 88 cepas isoladas a partir de alimentos. Já pesquisas feitas por Júnior et al. (2013), obtiveram um percentual de 22,22% de 9 amostras de *S. aureus* sensíveis à oxacilina. Ambos os autores apontam os resultados como significativos para penicilina e oxacilina corroborando com os dados encontrados nesta pesquisa.

As estirpes SsII, Sx e SsIV mostraram-se resistentes tanto à oxacilina quanto à penicilina G, com halos de inibição que variaram de 0 a 17 mm para oxacilina e de 18 a 24 mm para penicilina G como mostrado na tabela 1. Esses resultados podem levar a supor uma possível ativação da expressão gênica para conferir resistência à penicilina, uma vez que, apesar de todas as estirpes apresentarem os genes *mecA*, *seg* e *seh* apenas SsIII foi relatada como resistente à penicilina em trabalhos anteriores, tendo nesta pesquisa um perfil de resistência definido para duas estirpes distintas.

Tabela 1: Antibiógrama das estirpes de *Staphylococcus sciuri* e *Staphylococcus xylosus* (24 h). ERI – Eritromicina; AMC – Ácido Clavulânico + Amoxicilina; PG – Penicilina G; CIP – Ciprofloxacina; LVX – Levofloxacina; OXA – Oxacilina; CFL – Cefalotina; IPM – Imipenem; NOR – Norofloxacina; GEN – Gentamicina. Padrão de Halos preconizados pelo Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI (2005).

Diâmetro dos Halos de Inibição (mm) em 24 h										
	ERI	AMC	PG	CIP	LVX	OXA	CFL	IPM	NOR	GEN
SsI	26s	35s	34s	23s	22s	17r	36,5s	39s	25s	25,5s
SsII	23s	23s	18r	24s	23s	0	24s	31s	23s	22s
Sx	17i	26s	20r	24s	24s	0	24s	30,5s	23s	23s
SsIII	29s	36s	30s	28s	27s	12r	35s	44,5s	24s	27s
SsIV	23s	32s	24r	24s	21s	11r	32s	37s	23s	22s

r – resistente; s – sensível; i – intermediário.

Dentre todos os microrganismos estudados Sx foi a que apresentou o mais amplo perfil de resistência aos antibióticos utilizados na pesquisa. Essa estirpe mostrou-se resistente à penicilina G, oxacilina e intermediária para eritromicina, um macrolídeo. Esta estirpe foi selecionada para inoculação *in vivo* e desenvolvimento dos ensaios de

1356 controle de infecção em ratos uma vez que demonstrou perfil de resistência mais amplo
1357 aos antibióticos utilizados.

1359 3.2 Atividade Antibacteriana do Extrato Etanólico de *P. guajava*

1360 Todos as estirpes bacterianas mostraram-se sensíveis ao extrato de *P. guajava* com
1361 valores de halo de inibição crescentes a partir de 22 mm (30 µL) para o tratamento de 10
1362 µL/mL, diferentemente dos resultados encontrados por Okamoto (2010), que obteve
1363 halos de inibição de 6 mm (5 µL) e 9,5 mm (10 µL) para o tratamento de 200 µL/mL,
1364 mostrando valores de halo de inibição inferiores aos encontrados nesta pesquisa. É
1365 possível que esta diferença tenha sido dada pela quantidade (µL) do extrato usado para
1366 saturar os discos de papel de filtro, já que neste trabalho foram usados 30 µL em
1367 comparação com 5 e 10 µL utilizados no trabalho mencionado, uma vez que, quanto
1368 maior a quantidade de extrato no disco maior o halo de inibição bacteriana.

1369 O tratamento de 330 µL/mL apresentou maior potencial antimicrobiano com
1370 valores de halo maiores em relação aos outros tratamentos, à exceção dos tratamentos de
1371 600 e 900 µL/mL que foi inviável para uso *in vivo* devido à sua toxicidade (Tabela 2).

Tabela 2. Atividade antiestafilocócica do extrato etanólico de *Psidium guajava* L. (24 h)

	Tratamentos do extrato etanólico (µL/mL) / diâmetro dos halos de inibição (mm)									
	10	50	120	210	330	400	480	530	650	900
SsI	22,6	23,6	26,6	28,3	29,6	28	29,3	29	29	30,6
SsII	22,5	24	27,6	28	30,6	28,3	28,6	29	29	30,3
Sx	22,6	23,6	28	28,6	29,3	27,3	29,3	29	30	30,3
SsIII	23	23,5	23	26	29,5	27,3	28,3	29	29,3	29,6
SsIV	22	22,6	25	27,3	29	28,6	29	28,6	29	29,6

Menezes (2013) obteve halos de inibição para *S. aureus* com extrato hidroalcoólico das folhas de *P. guajava* que variam entre 13 e 28 mm, com tratamentos de 400 e 800 µL/mL, resultados muito semelhantes aos do presente estudo onde foram obtidos halos entre 22 e 30,6 mm. Foi verificado ainda por este autor sensibilidade para todos os isolados estudados como ocorrido nesta pesquisa.

É provável que, assim como os antimicrobianos sintéticos, que atuam interferindo nos processos metabólicos ou nas estruturas dos microrganismos como na síntese da parede celular, em alterações na permeabilidade da membrana citoplasmática, na replicação do cromossomo e na síntese proteica (TENOVER, 2006), os antibióticos de origem vegetal também exercerem mecanismos de interferência semelhantes. De acordo com Gutierrez et al. (2008), estudos com extratos metanólicos de folhas e raízes de *P. guajava* mostram que a quercetina, um flavonóide presente nestes órgãos, é o fitoconstituente responsável por exercer atividade antibacteriana.

É possível ser verificado, a partir dos dados encontrados, que a ação inibitória do crescimento microbiano aumenta com o aumento de concentração do extrato

(tratamentos) até 330 µL/mL. A partir do tratamento de 400 µL/mL há uma redução da atividade inibitória do crescimento microbiano para todas as estirpes testes (Tabela 2). Os valores de halo de inibição encontrados entre os tratamentos 530 µL/mL e 650 µL/mL são estatisticamente insignificantes e não diferem entre si quanto à atividade antimicrobiana.

Observou-se que, o aumento na concentração dos tratamentos gerou maior inibição de crescimento das estirpes estudadas, como se esperava, à exceção dos valores encontrados entre o intervalo de tratamento 530 µL/mL e 650 µL/mL. O melhor valor observado foi verificado para a estirpe SsI com média de halo de inibição de 30,6 mm com tratamento de 900 µL/mL.

Na figura 2 é possível estabelecer uma relação entre os resultados obtidos no teste de antibiograma e atividade antimicrobiana para a estirpe Sx, em que, apenas o halo de inibição para o Imipenem foi maior que todos os resultados verificados para o extrato, independente do tratamento. A exceção do Imipenem todos os outros antibióticos apresentaram valores de halo de inibição inferiores aos tratamentos utilizados acima de 50 µL/mL, sugerindo melhor eficiência do extrato em inibir o crescimento deste microrganismo *in vitro*.

De acordo com Chambers (1997), os antimicrobianos β-lactâmicos se ligam a proteínas que participam da síntese da parede celular, chamadas PBPs (proteínas ligadoras de penicilina), impedindo a formação da parede celular, resultando em lise bacteriana e morte do microrganismo. O mecanismo de resistência a oxacilina está relacionado ao desenvolvimento de uma PBP adicional, a PBP2a, que é plenamente funcional, mas não tem afinidade por antimicrobianos beta-lactâmicos. A codificação dessas novas PBPs, tornando esses patógenos resistentes a oxacilina, está relacionada à aquisição do gene *mecA*, o qual faz parte de um elemento genético móvel detectado em

isolados com perfil de resistência aos β -lactâmicos. Neste sentido, pode-se sugerir que o alvo molecular para inativação ou degradação do microrganismo pelos fitoconstituintes majoritários de *P. guajava* (taninos e flavonóides) não é a parede celular, uma vez que, os resultados demonstraram que as estirpes foram sensíveis ao extrato e resistentes à oxacilina e penicilina G, ambos antimicrobianos do grupo dos β -lactâmicos.

Mesmo com o tratamento de 10 $\mu\text{L/mL}$ (menor concentração do extrato), foi possível verificar inibição do crescimento bacteriano diferentemente dos valores encontrados para penicilina G e oxacilina para os quais a estirpe foi relatada como resistente.

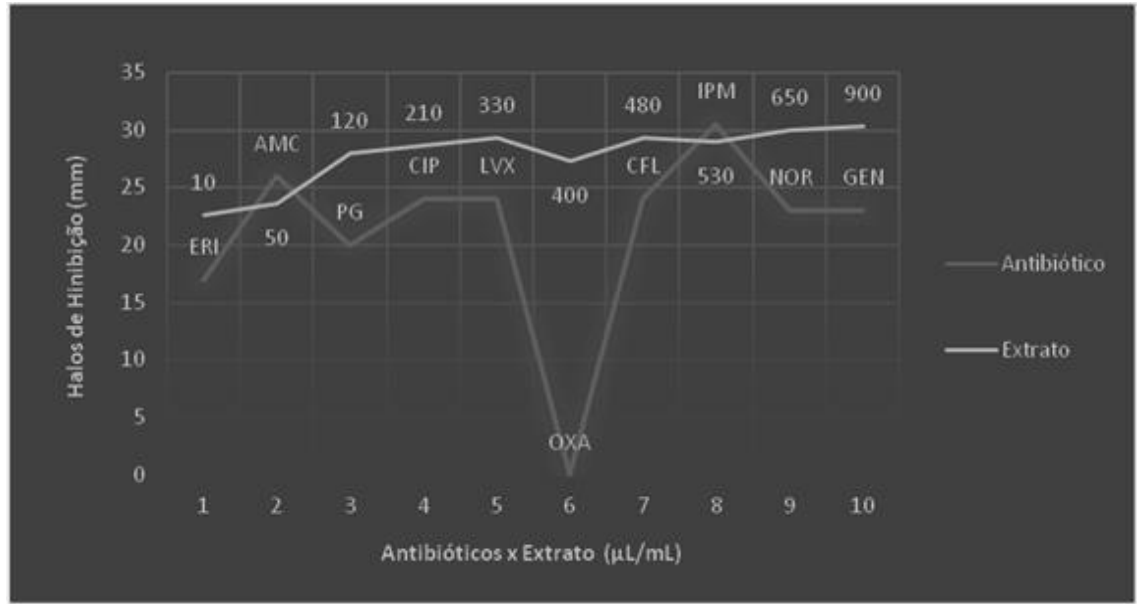


Figura 2. Relação entre os resultados obtidos para o teste de antibiograma e atividade antimicrobiana da estirpe Sx. ERI – Eritromicina; AMC – Ácido Clavulânico + Amoxicilina; PG – Penicilina G; CIP – Ciprofloxacina; LVX – Levofloxacina; OXA – Oxacilina; CFL – Cefalotina; IPM – Imipenem; NOR – Norofloxacina; GEN – Gentamicina.

Os dados obtidos a partir do teste de Kruskal-Wallis demonstraram diferenças significativas entre os tratamentos de 10-900 $\mu\text{L/mL}$ para todas as estirpes a exceção da estirpe SsIII com valores de $p = 0,015, 0,005, 0,015, 0,002$ respectivamente, e 10-300

1451 $\mu\text{L/mL}$ para a estirpe SsII com $p = 0,005$. Não houve diferença significativa entre os
1452 tratamentos para a estirpe SsIII.

1453 Gonçalves et al. (2005), também estimaram a resistência e sensibilidade, tanto
1454 para antibióticos comerciais quanto para o extrato de *P. guajava*, e demonstraram que
1455 estirpes de *Staphylococcus* coagulase negativo foram resistentes ao extrato e aos
1456 antibióticos penicilina e sulfazotrim, mantendo uma correlação com os resultados da
1457 presente pesquisa apenas para o antibiótico penicilina, pois, todas as estirpes tiveram
1458 seu crescimento inibido com o extrato.

1459 São escassos os trabalhos que identificam quais fitoconstituente de *P. guajava*
1460 exercem atividade antibacteriana, no entanto, várias pesquisas já identificaram
1461 princípios ativos de órgãos desta planta que, por serem os compostos majoritários de
1462 órgãos específicos, podem ser apontados como os responsáveis por essa atividade
1463 biológica. Segundo Pino et al. (2001), os principais constituintes dos óleos voláteis das
1464 folhas de *P. guajava* (órgão utilizado para extração do extrato nesta pesquisa), são β -
1465 cariofileno (21,6%), (E)-nerolidol (19,2%) e selin-11-en-4 α -ol (13,4%), ainda de acordo
1466 com Domingos et al. (2003), os principais constituintes de óleo essencial de folhas e
1467 caules de *P. guajava* são α -pineno (23,9%), 1,8-cineol (21,4%) e β -bisabolol (9,2%).

1468 Almeida et al. (2006), descreveram outras atividades terapêuticas atribuídas à
1469 flavonóides como quercetina, canferol e miricetina obtidos da infusão de folhas de *P.*
1470 *guajava*. Arima e Danno (2002) identificaram e definiram a estrutura química de quatro
1471 componentes antibacterianos das folhas de *P. guajava* sendo dois novos glicosídeos
1472 flavonóides, morin-3-o- α -L-lixopiranosídeo e morin-3-o- α -L-arabopiranosídeo, e dois
1473 flavonóides já conhecidos, guaijavarina e quercetina, no entanto, a atividade
1474 antimicrobiana foi testada para *Salmonella enteritidis* e *Bacillus cereus*, dois

microrganismos bacilares, um Gram-negativo e outro Gram-positivo, respectivamente, diferindo dos microrganismos deste estudo.

Araújo (2010), em testes com cepa padrão obteve halos de inibição para *S. aureus* ATCC 6538 de 10 mm com tratamento de 500 µL/m, enquanto neste trabalho foram obtidos halos de 29 mm para as estirpes SsI, II, III e Sx e 28,6 mm para a estirpe SsIV. Diferenças significativas como essas podem ocorrer devida a fatores múltiplos como estirpe/espécie, órgão utilizado para obtenção do extrato, período de coleta do vegetal, extrator e diluente.

3.3 Teste de Toxicidade com *Artemia salina*

Os dados mostraram uma taxa (%) média de mortalidade de 39,66%, valor abaixo para dose DL50 que corresponde a uma taxa de 50% de morte. Porém nos tratamentos de 650 µL/mL e 900 µL/mL, os dois últimos maiores valores para os tratamentos utilizados nesta pesquisa, as taxas de morte foram respectivamente 57,1%, e 54,5% valores acima DL50 (Figura 3). Portanto, os tratamentos considerados tóxicos na presente pesquisa foram os de 650 µL/mL e 900 µL/mL, sendo descartados para uso *in vivo*. Os demais tratamentos não apresentaram toxicidade verificada no teste com cistos de *A. salina*.

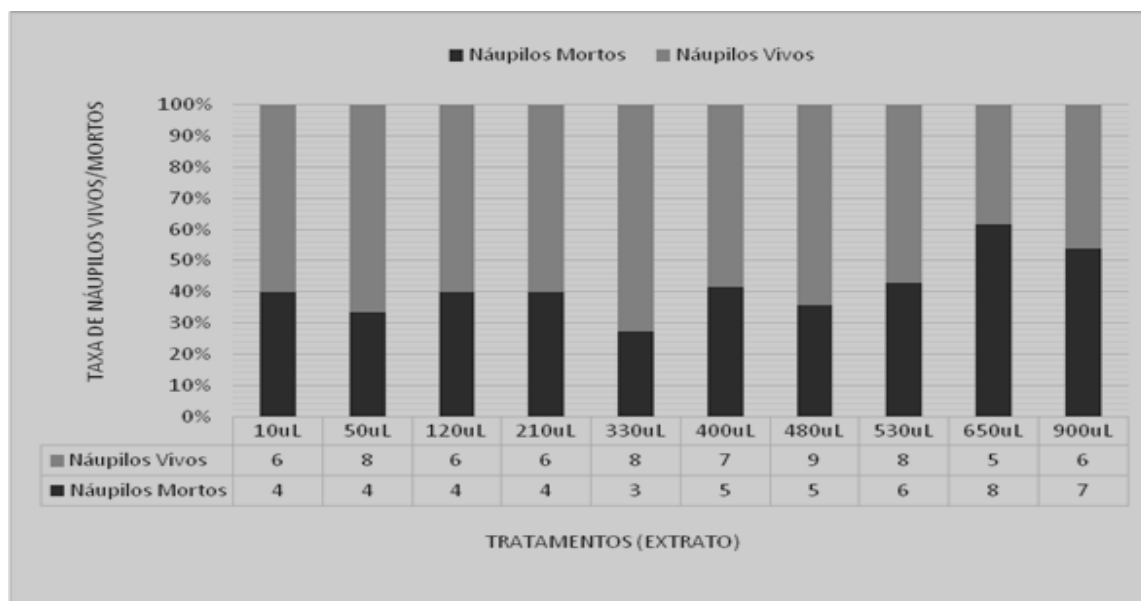


Figura 3: Teste de toxicidade (DL-50) com cistos de *Artemia salina* (24h).

3.4 Avaliação macroscópica dos ferimentos

Não foi verificada nenhuma mudança no comportamento dos animais durante a realização dos experimentos. Após efeito dos anestésicos os animais apresentaram comportamento equivalente ao percebido antes dos procedimentos realizados nos testes. A avaliação macroscópica dos ferimentos provocados no dorso dos animais, após 24 h de inoculação com as suspensões das estirpes, não apresentou sinais indicativos de infecção, não foi observado nos animais dos 4 grupos secreção purulenta. Após 24 h de inoculação com as suspensões das estirpes nenhum dos animais dos 4 grupos estudados apresentaram secreção purulenta.

A terapêutica de feridas é uma constante preocupação clínica, pois ainda é um desafio cuidar de lesões cutâneas com os recursos atuais existentes. Apesar dos avanços tecnológicos, poucos têm acesso, devido ao alto custo e à limitação aos grandes centros urbanos (LIMA; GUERRA, 2011). Estudos mostram que a utilização de plantas torna-se uma necessidade para a ampliação do arsenal terapêutico nessa área e na redução dos

recursos dispensados para o tratamento (MAJEWSKA; GENDASZEWSKA-DARMACH, 2011).

Neste estudo a avaliação dos ferimentos nos primeiros cinco dias apresentou rápida evolução para fechamento das feridas nos animais do GEI, com lesões secas, sem formação de secreção purulenta, coagulação inicial de sangue com formação de crosta, como pode ser verificado na figura 4b. Resultados diferentes foram percebidos para os animais dos demais grupos, em que, o progresso de cicatrização foi considerado lento, em comparação com os ratos do GEI, com ferimento ainda com sangramento, principalmente para os ratos do grupo 2 (Figura 4c), edema e sem retração. Em animais de pele menos aderida aos planos profundos (como os ratos), a contração pode chegar de 80 a 90% de fechamento das lesões cutânea.

A análise macroscópica das lesões então permite inferir que os animais do grupo tratado com o extrato de *P. guajava* apresentou melhores resultados, comparado aos demais grupos, inclusive ao grupo GC+. Mesmo não ocorrendo infecção esperada (com a inoculação do patógeno) é possível deduzir que estes resultados tenham sido possíveis devido às menores reações derivadas do processo inflamatório que são mecanismos naturais em lesões. Ainda assim, uma elevada atividade inflamatória é prejudicial podendo haver comprometimento da microcirculação e inibir a formação de fibroblastos (LUCENA et al., 2006).

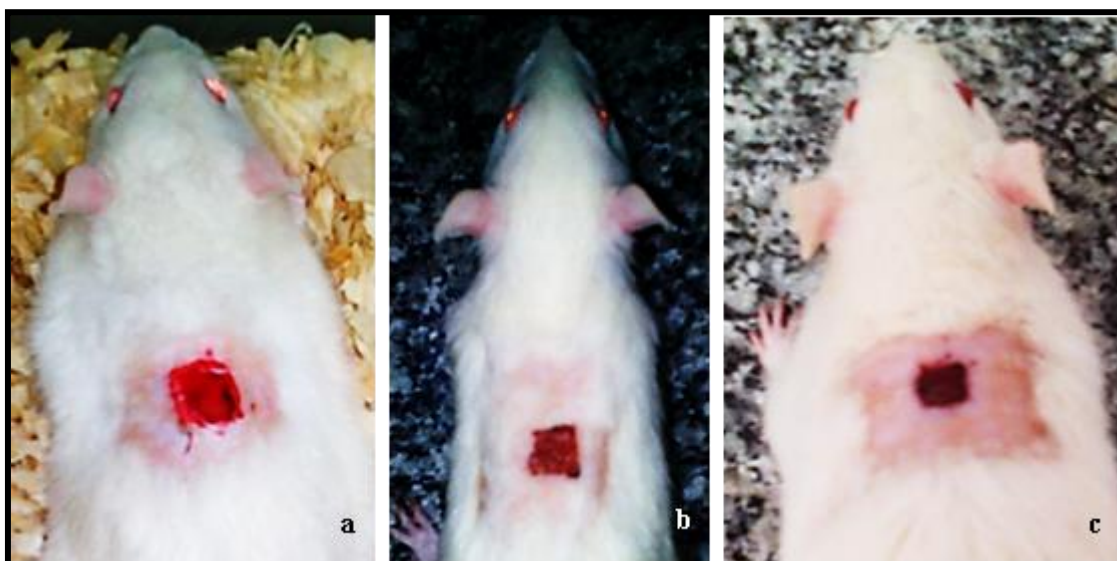


Figura 4: Formação de crosta nos ferimentos em ratos dos diferentes grupos. a – grupo 1, pós trauma; b – grupo 1, 1º dia; c – grupo 2, 1º dia.

Ao terceiro dia de avaliação o progresso de cicatrização foi considerado muito avançado para todos os animais do GEI em relação aos ratos dos demais grupos. No quinto dia de avaliação foi verificada uma diferença significativa no processo macroscópico de cicatrização para os animais do grupo 1 em relação aos animais dos demais grupos. Pode ser verificado na figura 5a retração do ferimento completamente coberto por uma crosta de aspecto rígido resultado da coagulação sanguínea no local do ferimento enquanto na figura 5b pode ainda ser notada a presença de sangue, sem retração aparente e bordas de ferimento indicando edema.

Segundo autores a estabilidade dos constituintes de flavonóides totais das folhas de *P. guajava* na composição do produto obtido de extrato vegetal é importante para a ação anti-inflamatória e cicatrizante de compostos a serem testado (SILVA et al., 2002; MILTERSTEINER et al., 2003).

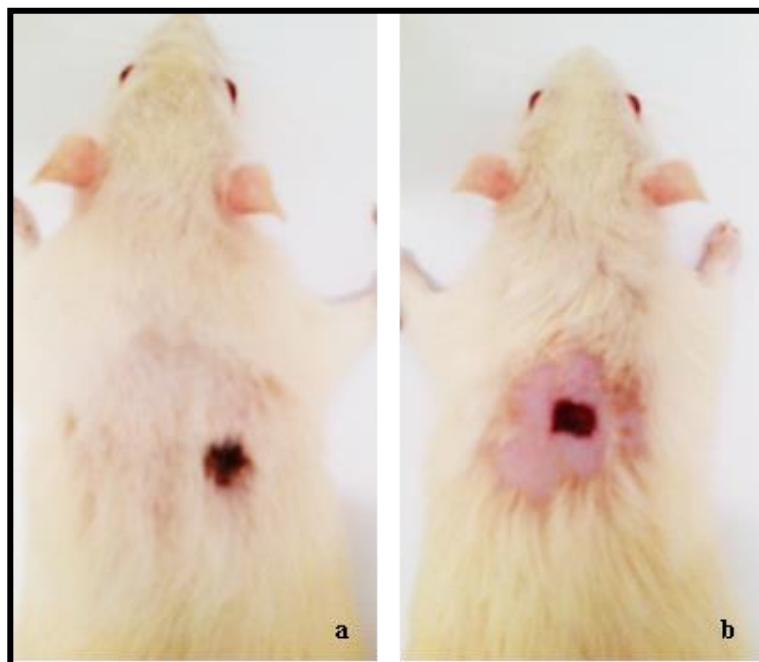


Figura 5: Avaliação macroscópica dos ferimentos e processo de cicatrização ao quinto dia de avaliação. **a** –grupo 1(extrato); **b** grupo 2 (antibiótico).

Todos os animais do GC+ apresentaram diarreia durante o tratamento com o antibiótico. É possível afirmar que o estado diarreico dos animais tenha sido provocado pelo uso do antibiótico Chemitril[®] uma vez que, os mesmos sintomas não foram percebidos para os animais dos demais grupos.

3.5 Avaliação Histoquímica do Processo de Cicatrização

A análise histoquímica nas áreas de cicatrização dos animais dos grupos extrato e antibiótico apresentaram reepitelização da epiderme e uma derme com presença de fibras colágenas espessas. Já nas áreas de cicatrização dos animais dos grupos álcool e placebo apresentaram derme com fibras colágenas mais delgadas. Além disso, neste último grupo, não foi evidenciado processo de reepitelização (Figura 6A-6D). A quantificação em pixels do teor de colágeno não revelou diferenças significativas dos pixels entre as áreas de cicatrização dos animais dos grupos extrato e antibiótico, porém

estes grupos apresentaram os menores valores, diferindo significativamente dos grupos álcool e placebo, os quais não diferiram entre si (Figura 7).

O colágeno é o componente mais abundante da matriz extracelular que promove a resistência tênsil da pele (CUTTLE et al., 2004; BRINK et al., 2005). A neoformação e deposição desta fibra exercem papel importante na resposta de cicatrização, uma vez que a modulação da migração e proliferação celular garante a eficácia do processo de reparo (CUTTLE et al., 2004). Assim, quanto mais fibras colágenas (fibras colágenas espessas), maior resistência tênsil e, portanto, reparo tecidual mais eficiente. Estes resultados foram obtidos para os animais do grupo GEI em comparação com os grupos controle + e placebo.

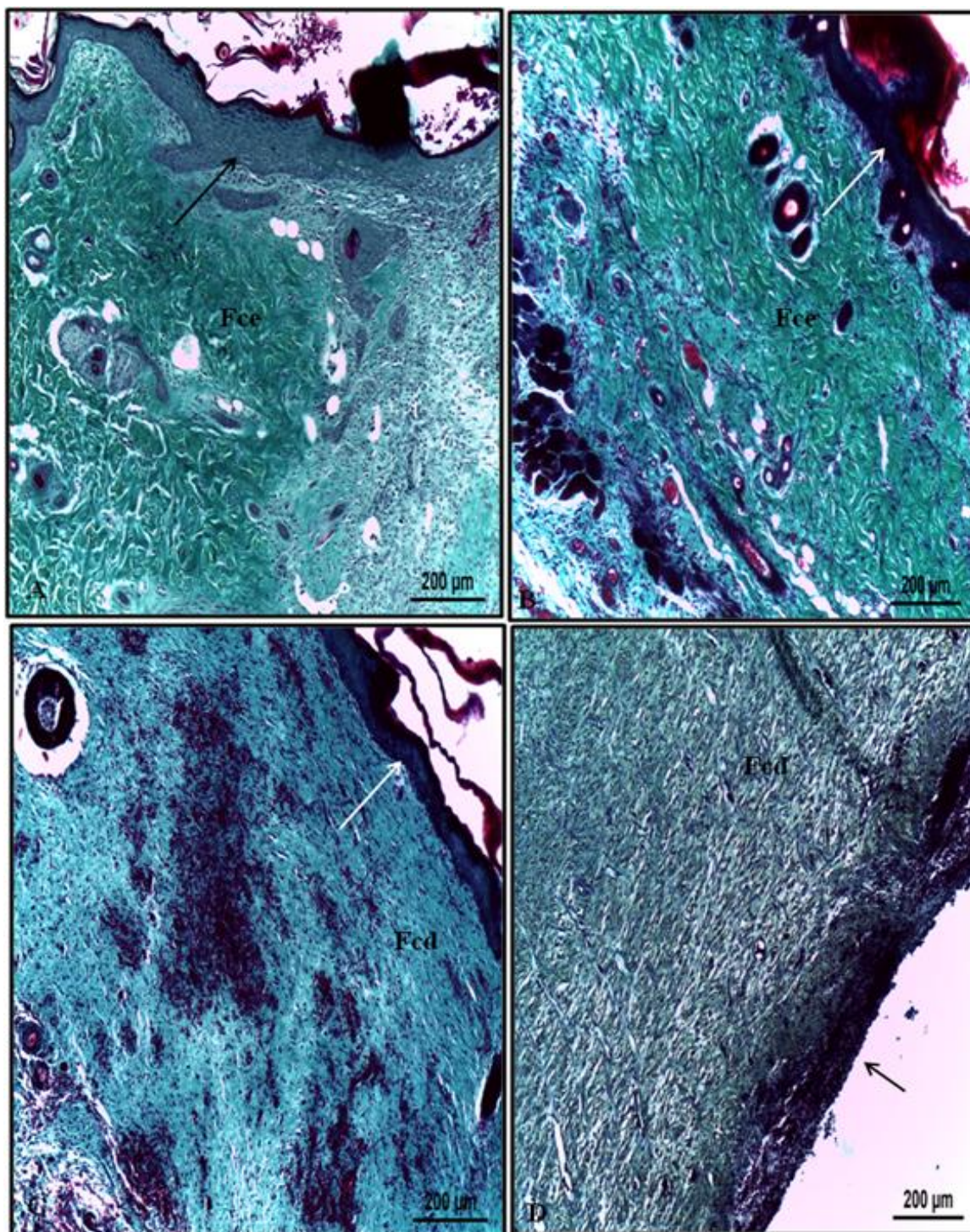


Figura 6: Fragmentos das áreas de cicatrização dos animais dos grupos experimentais. Notar na derme, a presença de fibras colágenas mais espessas em A (Extrato) e B (Antibiótico). Em C (Álcool) e D (Placebo) a derme apresenta-se com grande teor de fibras colágenas delgadas. Notar ainda ausência de epiderme neste último grupo. Epiderme - setas longas; Fibras colágenas espessas - Fcd; Fibras colágenas delgadas; Ausência de epiderme - seta curta. Coloração Tricrômico de Gomori.

Broughton (2006), afirma que a deposição de colágeno é a característica clinicamente mais importante da fase de remodelação, a última fase da cicatrização. O colágeno produzido inicialmente (colágeno tipo III) é mais fino do que o colágeno presente na pele normal, e tem orientação paralela à pele. O colágeno inicial é reabsorvido e um colágeno mais espesso é produzido e depositado ao longo das linhas de tensão com o decorrer do tempo o que significa maior força tênsil da ferida, como observado na figura 6a que representa o grupo GEI. Mesmo após um longo período de tempo a ferida apresentará um colágeno menos organizado do que o da pele original, e a força tênsil jamais será a mesma, atingindo uma eficiência em torno de 80% após três meses de reconstituição (Broughton, 2006).

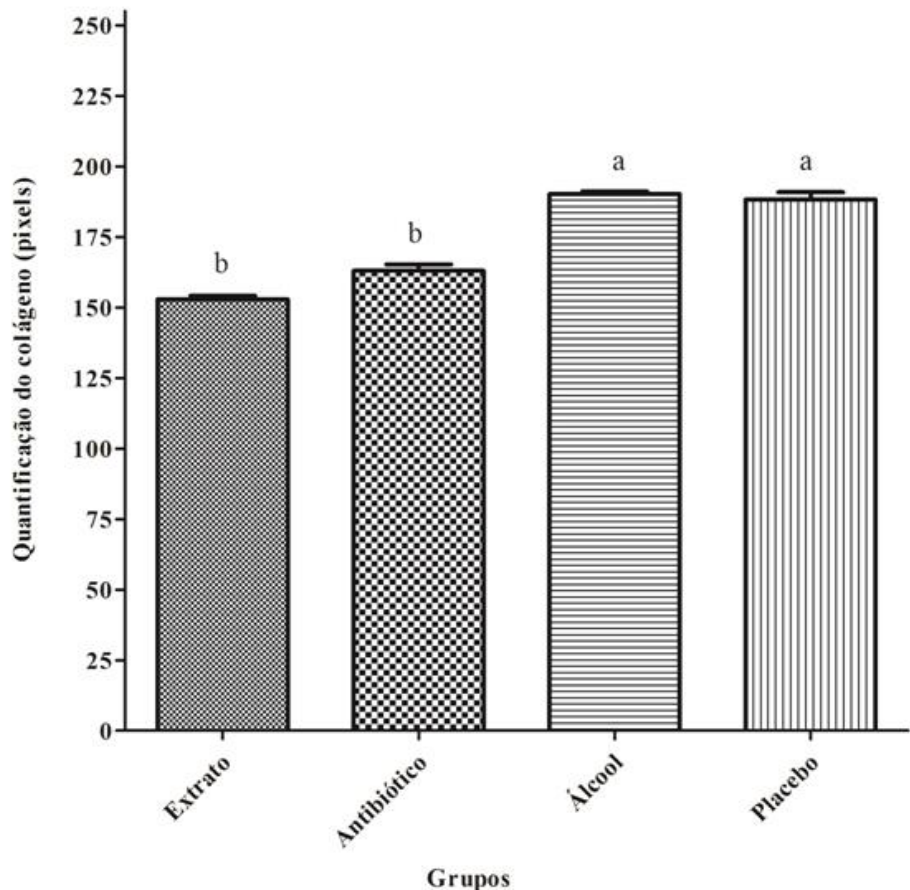


Figura 7: Quantificação em pixels do teor de colágeno. Notar redução significativa dos pixels entre os grupos extrato e antibiótico e em relação aos outros. *Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis com post-hoc Dunn ($p < 0,05$).

1701 Diante dos resultados, conclui-se que o extrato etanólico de folhas de *P. guajava*,
1702 demonstrou ser eficiente na inibição do crescimento de estirpes *Staphylococcus* spp. *in*
1703 *vitro*, além de promover mais rapidamente o processo de cicatrização. Entretanto, há
1704 necessidade de mais estudos no sentido de avaliar fitoquimicamente a espécie vegetal a
1705 fim de constatar os seus compostos majoritários e testar suas atividades biológicas,
1706 farmacológicas e/ou tóxicas.

1707

1708 4. Referências

- 1709 ACAMPORA, A. J.; TRAMONTE, R.; BÜRGER, D.; BÜRGER, P. J. Efeitos da
1710 quercetina na cicatrização de ferida cirúrgica contaminada em ratos Wistar. **Arquivos**
1711 **Catarinenses de Medicina**, v. 36, p. 69-75, 2007.
- 1712 ALMEIDA, K. C.; BARBOSA, T. R.; SILVA, R. N. R. da; JACQUES, D. da S.;
1713 FREIRE, R. B. Efeito citotóxico do infuso aquoso de *Psidium guajava* L. (Myrtaceae).
1714 **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 87, p. 60-62, 2006.
- 1715 ARAÚJO, N. R. R. **Avaliação n vitro da atividade antimicrobiana de extratos**
1716 **vegetais sobre microrganismos relacionados à lesão de mucosite oral**. 2010. 100p.
1717 Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Belém.
- 1718 ARIMA, H.; DANNO, G. Isolation of antimicrobial compounds from guava (*Psidium*
1719 *guajava* L.) and their structural elucidation. **Bioscience, Biotechnology, and**
1720 **Biochemistry**, v. 66, p. 1727-1730, 2002.
- 1721 ANDOĞAN B. C.; BAYDAR H.; KAYA S.; DEMIRCI M; ÖZBAŞAR D.; MUMCU
1722 E. 2002. Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils.
1723 **Archives of Pharmacal Research**, v. 25, p.860-864, 2002.
- 1724 BATISTA J. E.; FERREIRA E L.; NASCIMENTO D. C.; VENTURA R. F.;
1725 OLIVEIRA W. L.; LEAL N C.; LIMA-FILHO J. V. Antimicrobial resistance and
1726 detection of the *mecA* gene besides enterotoxin-encoding genes among coagulase-
1727 negative *Staphylococci* isolated from clam meat of *Anomalocardia brasiliana*.
1728 **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 10, p. 1044-1049, 2013.
- 1729 BINGEL, S. A. Pathology of a mouse model of x-linked chronic granulomatous disease.
1730 **Contemporary Topics in Laboratory Animal Science**, v. 41, p. 33–38, 2002.
- 1731 BLACK, J. G. **Microbiologia: fundamentos e perspectivas**. Rio de Janeiro:
1732 Guanabara Koogan, 2002, 856p.
- 1733 CARVALHO, A. A. T.; SAMPAIO, M. C. C.; SAMPAIO, F. C.; MELO, A. F. M.;
1734 SENA, K. X. F. R.; CHIAPPETA, A. A.; HIGINO, J. S. Atividade *in vitro* de extratos
1735 hidroalcoólico de *Psidium guajava* L. sobre bactérias Gram-Negativas. **Acta**
1736 **Farmacéutica Bonaerense**, v. 21, p. 255-258, 2002.
- 1737 CHAMBERS, H. F. Methicillin resistance in *Staphylococci*: molecular and biochemical
1738 basis and clinical implications. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 10, p. 781-791,
1739 1997.
- 1740 Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial*
1741 *Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement*. CLSI document M100-S15
1742 (ISBN 1-56238-556-9). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley
1743 Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.
- 1744 CLSI publication M100-S20 Suggested Grouping of US-FDA Approved Antimicrobial
1745 Agents That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Nonfastidious
1746 Organisms by Clinical Laboratories, 2010.

- 1747 SILVA, J. D.; LUZ, A. I. R.; SILVA, M. H. L.; ANDRADE, E. H.; ZOGHBI, M. G. B.;
1748 MAIA, J. G. S. Essential oils of the leaves and stems of four *Psidium guajava* spp.
1749 **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, p. 240-243, 2003.
- 1750 FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2002. 198p.
- 1751 GOMES M. J. P. 2013. **Gênero *Staphylococcus* spp.** Disponível em:
1752 [http://www.ufrgs.br/labacvet/files/G%C3%AAnero%20Staphylococcus%20spp%204-](http://www.ufrgs.br/labacvet/files/G%C3%AAnero%20Staphylococcus%20spp%204-2013-1.pdf)
1753 2013-1.pdf. Acesso em: 18 nov. 2015.
- 1754 GONÇALVES, A.; ALVES, F. A.; MENEZES, H. Estudo comparativa da atividade
1755 antimicrobiana de extrato de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**,
1756 v. 72, p. 353-358, 2005.
- 1757 GUTIERREZ, R. M.; MITCHEL, S.; SOLIS, R. V. *Psidium guajava*: A review of its
1758 traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**,
1759 v. 117, p. 1-27, 2008.
- 1760 HANBERGER, H.; DIEKEMA, D.; FLUIT, A.; JONES, R.; STRUELENS, M.;
1761 SPENCER, R.; WOLFF, M. Surveillance of antibiotic resistance in European ICUs.
1762 **Journal of Hospital Infection**, v. 48, p. 161-176, 2001.
- 1763 HEDIN, G.; WIDERSTROM, M. Endocarditis due to *Staphylococcus sciuri*. **European**
1764 **Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 17, p. 673-675, 1998.
- 1765 JACKSON, S. H.; MILLER, G. F.; SEGAL, B. H.; MARDINEY, M.; 3rd,
1766 DOMACHOWSKIE, J. B.; GALLIN, J. I.; HOLLAND, S. M.; 2001. IFN γ is effective in
1767 reducing infections in the mouse model of chronic granulomatous disease (CGD).
1768 **Journal of Interferon & Cytokine Research**, v. 21, p. 567-573, 2001.
- 1769 JÚNIOR, J. D. P.; GONÇALVES, J. C.; TINOCO, A. L. A.; COELHO, R. O; PERON,
1770 G. R. Identificação e perfil de sensibilidade de bactérias em garrotes de uso hospitalar.
1771 **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, p. 269-273, 2013.
- 1772 KOKSAL F, YASAR H, SAMASTI M. Antibiotic resistance patterns of coagulase-
1773 negative staphylococcus strains isolated from blood cultures of septicemic patients in
1774 Turkey. **Microbiological Research**, v. 164, p. 404-410, 2009.
- 1775 KUCHENBECKER, B. S.; RIBEIRO, A. R.; CARDOSO, M. Perfil de resistência de
1776 *Staphylococcus aureus* obtidos de produtos de origem animal analisados pelo Serviço
1777 de Inspeção Federal do Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37: p. 143-149, 2009.
- 1778 LIMA, A. C. B.; GUERRA, D. M. Avaliação do custo do tratamento de úlceras por
1779 pressão em pacientes hospitalizados usando curativos industrializados. **Ciência &**
1780 **Saúde Coletiva**, v. 16: p. 267-77, 2011.
- 1781 LOPES, W. B.; MORONI, F. T.; BRANDEBURGO, M. I. H.; HAMAGUCHI, A.
1782 Desenvolvimento de um método alternativo ao uso de animais de laboratório para
1783 avaliação da toxicidade de extratos vegetais. **Revista Eletrônica Horizonte Científico**,
1784 v. 1, p. 1-11, 2002.

- 1785 LUCENA, P. L. H.; FILHO, J. M. R.; MAZZA, M.; CZECZKO, N. G.; DIETZ, U. A.;
1786 Mario NETO, A. C.; HENRIQUES, G. S.; SANTOS, O. J.; CESCHIN, A. P.; THIELE,
1787 E. S. Evaluation of the areira (Schinus terebinthifolius Raddi) in the healing process
1788 of surgical incision in the bladder of rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, p. 46-51,
1789 2006.
- 1790 MAJEWSKA, I.; GENDASZEWSKA-DARMACH, E. Proangiogenic activity of plant
1791 extracts in accelerating wound healing – a new face of old phytomedicines. **Acta**
1792 **Biochimica Polonica**, v. 58, p. 449-60, 2011.
- 1793 MENEZES, J. S. **Ação antimicrobiana in vitro de Psidium guajava L. contra**
1794 **Staphylococcus aureus isolados de leite mastítico**. 2013. 64p. Dissertação (Mestrado)
1795 – Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas.
- 1796 MILTERSTEINER, A.; MILTERSTEINER, D.; FILHO, N. P.; FROTA, A. R.; ELY, P.
1797 B.; ZETTLER, C. G.; MARRONI, C. A.; MARRONI, N. P. Uso de quercetina a longo
1798 prazo em ratos cirróticos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18, p. 232-237, 2003.
- 1799 NAGASE, N.; SASAKI, A.; YAMASHITA, K.; SHIMIZU, A.; WAKITA, Y.; KITAI,
1800 S.; KAWANO, J. Isolation and species distribution of staphylococci from animal and
1801 human skin. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 64, p. 245–250, 2002.
- 1802 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Padronização dos
1803 testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão: norma aprovada – Oitava
1804 Edição. Documento M2-A8, National Committee for Clinical Laboratory Standards,
1805 Pennsylvania, v. 23, n. 1, 2003, p. 58.
- 1806 OBERHOLZER, M.; ÖSTREICHER, M.; CHRISTEN, H.; BRÜHIMANN, M.
1807 Methods in quantitative image analysis. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 105, p.
1808 333-345, 1996.
- 1809 OKAMOTO M. K. H. **Estudo das atividades cicatrizante e antimicrobiana do**
1810 **extrato glicólico e do gel de Psidium guajava L. e estudo da estabilidade do gel**.
1811 2010. 118p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo.
- 1812 PLANCHON, S.; GAILLARD-MARTINIE, B.; DORDET-FRISONI, E.; BELLON-
1813 FONTAINE, MN.; LEROY, S.; LABADIE, J.; HÉBRAUD, M.; TALON, R. 2006.
1814 Formation of biofilm by *Staphylococcus xylosus*. **International Journal of Food**
1815 **Microbiology**, v. 109, p. 88–96, 2006.
- 1816 PINOA, J. A.; AGÜEROB, J.; MARBOTC, R.; FUENTESD, V. Leaf oil of *Psidium*
1817 *guajava* L. from Cuba. **Journal of Essential Oil Research**, v. 13, p. 61-6, 2001.
- 1818 SHITTU, A.J.; LIN, J.; MORRISON, D.; KOLAWOLE, D. Isolation and molecular
1819 characterization of multiresistant *Staphylococcus sciuri* and *staphylococcus*
1820 *haemolyticus* associated with skin and soft-tissue infections. **Journal of Medical**
1821 **Microbiology**, v. 53, p. 51-55, 2004.
- 1822 SCHUCH, L. F.; WIEST, J. M.; COIMBRA, H. S.; PRESTES, L. S.; TONI, L. D.;
1823 LEMOS, J. S. Cinética da atividade antibacteriana *in vitro* de extratos naturais frente a
1824 micro-organismos relacionados à mastite bovina. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, p.
1825 161-169, 2008.

- 1826 SILVA, R. R.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; LEÃO, M. A. Efeito de flavonóides
1827 no metabolismo do ácido araquidônico. **Medicina**, v. 35, p. 127-133, 2002.
- 1828 TENOVER, F. C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **American**
1829 **Journal of Medicine**, v. 119: p. 3-10, 2006.
- 1830 VIEIRA, R. H.; RODRIGUES, D. P.; GONÇALVES, F. A.; MENEZES, F. G.;
1831 ARAGÃO, J. S.; SOUSA, O. V. Microbicidal effect of medicinal plant extracts
1832 (*Psidium guajava* Linn. and *Carica papaya* Linn.) upon bacteria isolated from fish
1833 muscle and known to induce diarrhea in children. **Revista do Instituto de Medicina**
1834 **Tropical**, v. 43, p. 145-148, 2001.