

UNIVERSIDADE DE SANTA CRUZ DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROMOÇÃO DA SAÚDE -
MESTRADO E DOUTORADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PROMOÇÃO DA SAÚDE

Tiago Antônio Heringer

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Tripodanthus acutifolius* von Thiegl EM CEPAS
DE *Mycobacterium* spp.**

Santa Cruz do Sul
2023

Tiago Antônio Heringer

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Tripodanthus acutifolius* von Thieg EM CEPAS
DE *Mycobacterium* spp.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde – Mestrado, Área de Concentração em Promoção da Saúde, Linha de Pesquisa em Vigilância em Saúde, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Promoção da Saúde.

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Lia Gonçalves Possuelo

Coorientadora: Prof.^a. Dr.^a. Chana de Medeiros da Silva

Colaborador: Prof. Dr. Pedro Eduardo de Almeida da Silva

Santa Cruz do Sul
2023

Tiago Antônio Heringer

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Tripodanthus acutifolius* von Thieg EM CEPAS
DE *Mycobacterium* spp.**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde – Mestrado, Área de Concentração em Promoção da Saúde, Linha de Pesquisa em Vigilância em Saúde, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Promoção da Saúde.

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Lia Gonçalves Possuelo

Coorientadora: Prof.^a. Dr.^a. Chana de Medeiros da Silva

Colaborador: Prof. Dr. Pedro Eduardo de Almeida da Silva

Banca Examinadora

Dr.^a Lia Gonçalves Possuelo
Professora Orientadora - UNISC

Dr.^a. Chana de Medeiros da Silva
Professora Coorientadora – UNISC

Dr.^a Jane Dagmar Pollo Renner
Professora examinadora interna do PPGPS – UNISC

Prof.^a Dr.^a Daniela Fernandes Ramos
Professor examinador externo PPGCS - FURG

Santa Cruz do Sul

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Seu Lotar e a Dona Terezinha, que fizeram um esforço enorme para que eu pudesse me formar e seguir estudando, ajudando como podiam e dando apoio sempre, meus irmãos, Lucas e Matias, que são o motivo pelo qual eu nunca desisti e sempre tentei melhorar, à minha família, tias, tios e primos, que sempre estiveram comigo apoiando e mantendo meus sonhos vivos e possíveis.

Aos meus professores e mestres que me conduziram, cada um de seu jeito, até onde me encontro, em especial minhas orientadoras, Profa Lia Gonçalves Possuelo e Profa Chana de Medeiros da Silva, por me possibilitarem realizar meu trabalho e me apontarem soluções e possibilidades que não veria sem os olhos delas, por isso são orientadoras maravilhosas.

Agradeço a cada colega do Mestrado e da Universidade que participou da minha caminhada: os colegas do Laboratório de Diagnóstico Molecular, os colegas do 35 e os alunos para os quais eu ministrei aulas de estágio. Todo mundo tem algo pra ensinar e aprender com a gente, e esse é um dos conselhos que eu carrego comigo, “aprenda com todos e ensine tudo que sabe, para quem quiser ouvir”.

Aos meus amigos, que me aguentaram reclamar e dizer que estava difícil, e sempre me deram certeza que eu conseguiria, que seria uma experiência incrível e que no fim íamos comemorar juntos cada conquista. *“orgulhosamente seguimos sonhando, que seremos eternos, novos filhos serão os jovens, e nós, os modernos”*.

Ao pessoal da FURG, Prof. Pedro Almeida, Profa. Daniela Ramos, Ana Julia, Marcos e Rodolfo, além de todas as bolsistas do laboratório de micobacteriologia da FAMED, pela recepção, aprendizado e troca de experiência no tempo que estive lá executando uma das etapas desse projeto.

À universidade de Santa Cruz do Sul e ao Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde pela oportunidade de participar de seu corpo discente e aprender tanto com professores maravilhosos e colegas incríveis. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela disponibilização de recurso para minha formação e capacitação, sem o qual não seria possível eu estar me formando e obtendo esse título.

EPÍGRAFE

“Avalia-se a inteligência de um indivíduo pela quantidade de incertezas que ele é capaz de suportar”
Immanuel Kant

RESUMO

Introdução: O gênero *Mycobacterium* pode ser subdividido em dois grupos: as bactérias de crescimento lento e de crescimento rápido, sendo causador de diversas doenças pulmonares, como a Tuberculose (TB), e doenças oportunistas como infecções de pele e outros tecidos. Uma característica compartilhada por diversas espécies desse gênero é a resistência intrínseca ou adquirida à diversos antibióticos, se tornando um problema de saúde pública. Dentre as alternativas para esse problema estão as pesquisas com produtos naturais a base de plantas medicinais, uma espécie que tem demonstrado resultados promissores é o *Tripodanthus acutifolius* von Thieg, uma erva-de-passarinho endêmica da América do Sul, que apresentou atividade antimicrobiana contra algumas cepas de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas além de ação antifúngica. **Objetivo:** Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos de *T. acutifolius* von Thieg frente a cepas de *Mycobacterium* spp. **Manuscrito I: Objetivo:** investigar quais espécies vegetais já foram testadas e quais os principais metabólitos secundários apresentam ação frente ao *Mycobacterium tuberculosis*. **Metodologia:** Foi realizada uma revisão integrativa tendo como questões norteadoras para guiar este estudo: quais são as espécies vegetais que já apresentaram potencial atividade antimicobacteriana frente ao *Mycobacterium tuberculosis*? E quais os grupos de metabólitos secundários se destacaram dentre as espécies investigadas como possíveis agentes antimicobacterianos? Os trabalhos incluídos nessa revisão foram estudos experimentais *in vitro*, realizados em todo o mundo, que tenham utilizado extratos de plantas medicinais de forma a avaliar a ação antimicobacteriana, *in vitro*, por método de microdiluição, com identificação de compostos majoritários, contra o *Mycobacterium tuberculosis*, publicados entre 2011 e 2021, de acesso livre e nos idiomas português e inglês. Para a pesquisa foram utilizadas as bases de dados eletrônicas Web of Science e PubMed. A busca foi realizada utilizando os descritores: “*medicinal plants AND against AND Mycobacterium tuberculosis*” **Resultados:** foram encontrados 12 artigos, em que relatam as atividades antimicrobianas de 20 espécies de plantas, sendo utilizados sete diferentes solventes: metanol, etanol, acetato de etila, hexano, diclorometano e clorofórmio dentre as espécies estudadas, quatro delas se destacaram com CIM < 10 µg/mL, foram elas *Artemisia abyssinica*, *Duroia macrophylla* Huber, *Uvaria rufa*, *Bridelia micrantha* (Berth), sendo a variedade de metabólitos secundários preponderante para a ação antimicobacteriana, destacando-se alcaloides, terpenos e compostos fenólicos como os principais compostos isolados nessas espécies. **Conclusão:** a ação sinérgica dos metabólitos secundários apresenta ação antimicobacteriana, superior aos compostos isolados. **Manuscrito II: Objetivo:** Avaliar a atividade antimicrobiana de *Tripodanthus acutifolius* contra micobactérias não tuberculosas de importância clínica. **Metodologia:** estudo experimental, *in vitro*. As partes aéreas do *Tripodanthus acutifolius* foram colhidas no mês de janeiro de 2022, secas e separadas em folhas e flores, sendo realizada a extração por maceração do extrato aquoso bruto, os quais foram fracionados com 3 solventes de diferentes polaridades: hexano, acetato de etila e metanol. Posteriormente, os extratos foram liofilizados e com eles testados a CIM, utilizando técnica de microdiluição com Resazurina (REMA). As micobactérias selecionadas foram as de crescimento rápido/intermediário, causadoras de infecções oportunistas, sendo elas: *Mycobacterium bolletii*, *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium fortuitum* e *Mycobacterium marinum* **Resultados:** Entre as cepas testadas, a espécie *M. marinum* teve seu crescimento inibido pelo extrato aquoso bruto das flores e pela fração de acetato de etila das folhas de *T. acutifolius*, com um CIM de 200 µg/mL, sendo os extratos não antagonísticos ao antibiótico Ciprofloxacino quando testados, a fração hexânica das flores apresentou atividade sinérgica ao antibiótico, foi verificada a presença de compostos fenólicos nas frações do extrato. **Conclusão:** o extrato aquoso bruto das flores e a fração de acetato de etila das folhas de *Tripodanthus acutifolius* possuem potencial antimicobacteriano frente a *Mycobacterium marinum*. **Conclusões gerais:** Os metabólitos secundários são determinantes

na capacidade antimicobacteriana in vitro dos extratos obtidos das plantas medicinais. Várias plantas já foram analisadas para ação antimicobacteriana e algumas delas tem se mostrado promissoras na descoberta de novos compostos. A espécie *Tripodanthus acutifolius* demonstrou poder antimicobacteriano contra uma das cepas estudadas; O *Mycobacterium marinum* foi o patógeno que apresentou sensibilidade a dois dos extratos obtidos em nosso estudo. O extrato aquoso bruto das flores e a fração de acetato de etila das folhas do *Tripodanthus acutifolius*, demonstraram os melhores resultados

Palavras-Chave: Erva-de-passarinho; REMA; Micobactérias; Metabólitos secundários.

ABSTRACT

Introduction: The genus *Mycobacterium* can be subdivided into two groups: slow-growing and fast-growing bacteria, which cause several lung diseases, such as Tuberculosis (TB), and opportunistic diseases such as infections of the skin and other tissues. A characteristic shared by several species of this genus is the intrinsic or acquired resistance to several antibiotics, becoming a public health problem. Among the alternatives to this problem are research with natural products based on medicinal plants, a species that has shown promising results is *Tripodanthus acutifolius* von Thieg, a mistletoe endemic to South America, which has shown antimicrobial activity against some strains of Gram-positive and Gram-negative bacteria in addition to antifungal action.. **Objective:** To evaluate the antimicrobial activity of *T. acutifolius* von Thieg extracts on *Mycobacterium* spp. **Manuscript I:** Objective: to investigate which plant species have already been tested and which main secondary metabolites are active against *Mycobacterium tuberculosis*. **Methodology:** An integrative review was carried out with the following guiding questions to guide this study: which plant species have already shown potential antimycobacterial activity against *Mycobacterium tuberculosis*? And which groups of secondary metabolites stood out among the investigated species as possible antimycobacterial agents? The works included in this review were in vitro experimental studies, carried out all over the world, that used extracts of medicinal plants in order to evaluate the antimycobacterial action, in vitro, by microdilution method, with identification of major compounds, against *Mycobacterium tuberculosis*, published between 2011 and 2021, open access and in Portuguese and English. For the research, the electronic databases Web of Science and PubMed were used. The search was carried out using the descriptors: “*medicinal plants AND against AND Mycobacterium tuberculosis*” **Results:** 12 articles were found, in which they report the antimicrobial activities of 20 species of plants, using seven different solvents: methanol, ethanol, ethyl acetate, hexane, dichloromethane and chloroform among the studied species, four of them stood out with MIC<10 µg/mL, they were *Artemisia abyssinica*, *Duroia macrophylla* Huber, *Uvaria rufa*, *Bridelia micrantha* (Berth), being the variety of secondary metabolites preponderant for the action antimycobacterial activity, highlighting alkaloids, terpenes and phenolic compounds as the main compounds isolated from these species. **Conclusion:** the number of secondary metabolites obtained in the extraction is decisive in the antimycobacterial action, with the combination of two or more classes of these compounds being more effective in the antimycobacterial action. **Manuscript II:** **Objective:** To evaluate the antimicrobial activity of *Tripodanthus acutifolius* against nontuberculous mycobacteria of clinical importance. **Methodology:** experimental study, in vitro. The aerial parts of *Tripodanthus acutifolius* were harvested in January 2022, dried and separated into leaves and flowers, extraction being carried out by maceration of the crude aqueous extract, which were fractionated with 3 solvents of different polarities: hexane, ethyl acetate and methanol. Subsequently, the extracts were lyophilized and MIC tested with them, using the technique of microdilution with Resazurin (REMA). The mycobacteria selected were those with rapid/intermediate growth, causing opportunistic infections, namely: *Mycobacterium boletii*, *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium marinum* **Results:** Among the tested strains, the growth of the *M. marinum* species was inhibited by the crude aqueous extract of the flowers and by the ethyl acetate fraction of the leaves of *T. acutifolius*, with a MIC of 200 µg/mL, with the extracts not antagonistic to the antibiotic Ciprofloxacin when tested, the hexane fraction of the flowers showed synergistic activity to the antibiotic, the presence of phenolic compounds in the extract fractions was verified. **Conclusion:** the crude aqueous extract of the flowers and the ethyl acetate fraction of the leaves of *Tripodanthus acutifolius* have antimycobacterial potential against *Mycobacterium marinum* **General conclusions:** Secondary metabolites are crucial for the in vitro antimycobacterial capacity of extracts obtained from medicinal plants. Several

plants have already been analyzed for antimycobacterial action and some of them have shown promise in the discovery of new compounds. The species *Tripodanthus acutifolius* demonstrated antimycobacterial power against one of the studied strains; *Mycobacterium marinum* was the pathogen that showed sensitivity to two of the extracts obtained in our study. The crude aqueous extract of the flowers and the ethyl acetate fraction of the leaves of *Tripodanthus acutifolius* showed the best results

Key words: Mistletoe; REMA; Mycobacteria; Secondary metabolites.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO, MARCO TEÓRICO E OBJETIVOS

Figura 1 - Estrutura da parede celular e da membrana plasmática do <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	19
Figura 2 - Algoritmo para a detecção de tuberculose em adultos.....	20
Figura 3 - Linha do tempo demonstrando os principais acontecimentos relacionados ao diagnóstico e tratamento da tuberculose.....	22
Figura 4 - <i>Tripodanthus acutifolius</i> von Thieg.....	27

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO, MARCO TEÓRICO E OBJETIVOS

Tabela 1 - Tratamento de casos novos de tuberculose.....21

Tabela 2 - Tratamento preconizado para micobactérias não-tuberculosas não-resistentes.....24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BAAR	Bacilos álcool-ácido resistentes
BCG	Bacilo Calmette-Guerin
CAAE	Certificado de Apresentação para Avaliação Ética
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CCF	Cromatografia em coluna do tipo flash
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CIF	Concentração Inibitória Fracionada
CIM	Concentração Inibitória Mínima
E	Etambutol
EAB	Extrato aquoso bruto
H	Isoniazida
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
MCT	Micobactérias causadoras de tuberculose
MDR	Tuberculose multirresistente
MNT	Micobactérias não-tuberculosas
MS	Metabólitos Secundários
MTB	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
R	Rifampicina
S	Streptomomicina
SIDA/AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
TB	Tuberculose
TRM-TB	Teste rápido molecular para tuberculose
TSA	Teste de sensibilidade
Z	Pirazinamida

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	13
CAPÍTULO I	14
INTRODUÇÃO, MARCO TEÓRICO E OBJETIVOS	14
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 MICOBACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA E A AÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS COMO ANTIMICROBIANOS.....	17
3 OBJETIVOS.....	30
CAPÍTULO II	31
ARTIGO I	32
POTENCIAL DE EXTRATOS VEGETAIS FRENTE À <i>MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS</i> : UMA REVISÃO INTEGRATIVA.....	32
ARTIGO II	34
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE <i>TRIPODANTHUS ACUTIFOLIUS</i> FRENTE À MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS.	34
CAPÍTULO III	36
CONCLUSÕES GERAIS	36
CAPÍTULO IV	38
NOTA A IMPRENSA.....	38
CAPÍTULO V	40
RELATÓRIO DE CAMPO DE TRABALHO	40
REFERÊNCIAS	43
ANEXOS	50
ANEXO A - EXSICATA DE <i>TRIPODANTHUS ACUTIFOLIUS</i> VON THIEG DEPOSITADA NO INSTITUTO DE CIÊNCIAS NATURAIS (ICN) DA UFRGS.	51
ANEXO B – CARTA DE ACEITE DE INSTITUIÇÃO PARCEIRA FURG	52
ANEXO C. CARTA ACEITE DE INSTITUIÇÃO PARCEIRA UNISC	53
ANEXO D. CADASTRO SISGEN.....	54
ANEXO F. NORMAS DA REVISTA BRAZILIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES	56
ANEXO G. SUBMISSÃO ARTIGO I	63

APRESENTAÇÃO

De acordo com o regimento do Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde da Universidade de Santa Cruz do Sul, a presente dissertação é composta por cinco capítulos. As seções englobadas são as seguintes: I) introdução, marco teórico e objetivos; II) manuscrito I e manuscrito II; III) conclusões gerais; IV) nota à imprensa e V) relatório de campo. No final, ainda estão disponíveis os anexos A, B, C e D.

O capítulo I apresenta a introdução, problema de pesquisa, marco teórico e objetivos geral e específicos que embasam o desenvolvimento da presente dissertação.

No capítulo II constam os manuscritos I e II desenvolvidos a fim de atingir os objetivos específicos, sendo o manuscrito I intitulado “Atividade antimicobacteriana de extratos vegetais frente *Mycobacterium tuberculosis* – uma revisão integrativa” e o manuscrito II, intitulado “Atividade antimicrobiana de *Tripodanthus acutifolius* frente à micobactérias não tuberculosas.”.

O capítulo III apresenta as considerações finais da dissertação.

O capítulo IV traz a Nota à Imprensa, que descreve de forma resumida o projeto de pesquisa e os principais resultados encontrados, de forma a contribuir com a popularização da ciência e tecnologia, bem como socializar os resultados à comunidade.

Por último, o capítulo V contempla o relatório de campo, onde são apontadas as dificuldades encontradas, as mudanças realizadas em relação ao projeto de pesquisa inicialmente redigido e o sucesso alcançado.

A defesa da presente dissertação está prevista para fevereiro de 2023, frente a banca examinadora constituída seguindo as exigências da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e regimento do programa.

CAPÍTULO I
INTRODUÇÃO, MARCO TEÓRICO E OBJETIVOS

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Mycobacterium* é distribuído em aproximadamente 170 espécies distintas de bactérias e dividido em duas categorias: bacilos de crescimento rápido e de crescimento lento. Algumas espécies tem a capacidade de causar doenças em humanos, sendo o *Mycobacterium tuberculosis* o principal agente responsável pela tuberculose (TB) (GAGNEUX, 2018). Além disso, diversos fatores definem a virulência de cada uma das espécies de *Mycobacterium*, tais como a capacidade de criar biofilme e a velocidade de crescimento, considerados fatores determinantes à evolução da infecção por esses microorganismos (BHATTACHARYA; MOHANDAS; GOLDMAN, 2019).

Sabe-se que o *M. tuberculosis* é um patógeno intracelular que necessita de um hospedeiro, humano ou animal, para se disseminar. O tratamento da TB é realizado com a combinação de fármacos e depende de um acompanhamento longo e contínuo, fator esse que contribui para o abandono dessa quimioterapia pelos pacientes, favorecendo assim o desenvolvimento de microorganismos multirresistentes (EL OMARI et al., 2019). Estima-se que, no ano de 2019, cerca de 12 milhões de pessoas sofriam com TB no mundo, sendo que aproximadamente 5% do total apresentavam resistência a algum fármaco e 78% destes eram multirresistentes (WHO, 2022). Referente a dados nacionais, no ano de 2020 foram registrados 66.819 novos casos, sendo que destes 1.171 (1,75%) apresentaram alguma forma de resistência (BRASIL, 2021a).

Além do *M. tuberculosis*, outras espécies de *Mycobacterium*, que são encontradas livremente no meio ambiente, podem causar infecções oportunistas, desde doenças dermatológicas até doenças pulmonares, como o próprio *M. tuberculosis* (LORET; DUMOUTIER, 2019). Além disso, esses microorganismos conhecidos, como micobactérias não tuberculosas (MNT), se tornaram um problema de saúde global pelo número crescente de infecções que tem causado e pela resistência demonstrada frente a antibióticos (CANTELLI; DASSONVILLE-KLIMPT; SONNET, 2021).

Estas dificuldades terapêuticas tem impulsionado a busca de fontes para a descoberta de novos fármacos e adjuvantes no tratamento de doenças infecciosas. Assim, uma destas alternativas é a medicina tradicional, especialmente aquela no uso de plantas como medicamentos (GUPTA et al., 2017, MANGWANI; SINGH; KUMAR, 2020). Sabe-se que as plantas medicinais possuem um importante papel na medicina tradicional, tendo sido utilizadas durante milênios como a única forma de tratamento para as mais variadas doenças (ŠANTIĆ et al., 2017). Cerca de 420 mil espécies de plantas já foram catalogadas e cerca de 10% delas

são estudadas para diversos fins terapêuticos (GUPTA et al., 2017, MANGWANI; SINGH; KUMAR, 2020).

Popularmente conhecida como Erva-de-passarinho, a *Tripodanthus acutifolius* von Thieg (*T. acutifolius*) é uma planta hemiparasita muito utilizada na medicina tradicional na América do Sul, devido a sua provável ação anti-inflamatória e antimicrobiana (SOBERÓN et al., 2010). Sendo assim esse trabalho visa investigar o *T. Acutifolius* como uma provável planta medicinal útil no tratamento de bactérias do gênero *Mycobacterium*, bem como possível adjuvante no seu tratamento, uma vez que é uma planta cuja atividade antimicrobiana é promissora (LEAL, 2018; MACHADO et al., 2021; SILVA, 2014; SOBERÓN et al., 2006, 2010a, 2010b; SOUZA et al., 2014)

Diante do exposto, o presente projeto tem como questão de pesquisa: o extrato de *T. acutifolius* é eficaz na inibição do crescimento de bactérias do gênero *Mycobacterium*?

2 MICOBACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA E A AÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS COMO ANTIMICROBIANOS

As micobactérias têm se tornado um problema de saúde global devido aos inúmeros casos de TB e outras enfermidades causadas por estes microrganismos. Apesar de já existirem tratamentos padronizados para a maioria das infecções causadas por estes microrganismos, os tratamentos são longos com alta toxicidade favorecendo a falha terapêutica. Nesse contexto, a fitoterapia aparece como uma alternativa na obtenção e descoberta de novos compostos para o tratamento destas enfermidades (MARTINI et al., 2020; SINGH et al., 2020; SZURPNICKA; KOWALCZUK; SZTERK, 2020).

2.1 Aspectos gerais do gênero *Mycobacterium*

O gênero *Mycobacterium* foi nomeado em 1896 pelos cientistas Lehmann e Neumann, que deram esse nome devido à presença de ácidos micólicos em sua parede celular e sua forma de bacilos, acreditando eles que esse gênero fosse próximo aos fungos (RIGOUTS; COGNEAU, 2021). Pertencentes à família Mycobacteriaceae são definidos como actinomicetos aeróbicos ou bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR), em forma de bastonete com ramificação ocasional; hifas aéreas normalmente estão ausentes e não são móveis, não esporulantes e contêm arabinose, galactose e meso-diaminopimélico em suas paredes. Eles têm razões de base de DNA de guanina e citosina na faixa de 62-70% (DUBEY et al., 2020). As cepas de *Mycobacterium* têm um ancestral comum, o *M. canetti*, patógeno que causa a TB e não tem a capacidade de ser transmitido de indivíduo para indivíduo, ou seja, é adquirida do ambiente (ORGEUR; BROSCHE, 2018).

As micobactérias são conhecidas por possuírem crescimento lento em meios de cultura, sendo que algumas espécies podem levar meses para produzir colônias visíveis, em contrapartida alguns exemplares desse gênero têm crescimento rápido, apresentando colônias em poucos dias. Ainda podem ser divididas em dois grupos, o complexo micobactérias causadoras de TB e as MNT (DELGHANDI et al., 2020). Estes grupos possuem cerca de 170 espécies de bactérias, apesar de algumas delas causarem infecções em seres humanos, em sua maioria, são microrganismos ambientais com reduzido potencial patogênico (ESTEBAN; GARCÍA-COCA, 2018).

O grupo das micobactérias causadoras de TB é representado pelos patógenos *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*,

Mycobacterium canettii, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium mungi*, *Mycobacterium orygis*, *Mycobacterium pinnipedii* e *Mycobacterium surricatae*, que juntamente com a bactéria *Mycobacterium leprae*, causadora da hanseníase, formam o grupo de maior importância para a saúde humana (ORGEUR; BROSCHE, 2018).

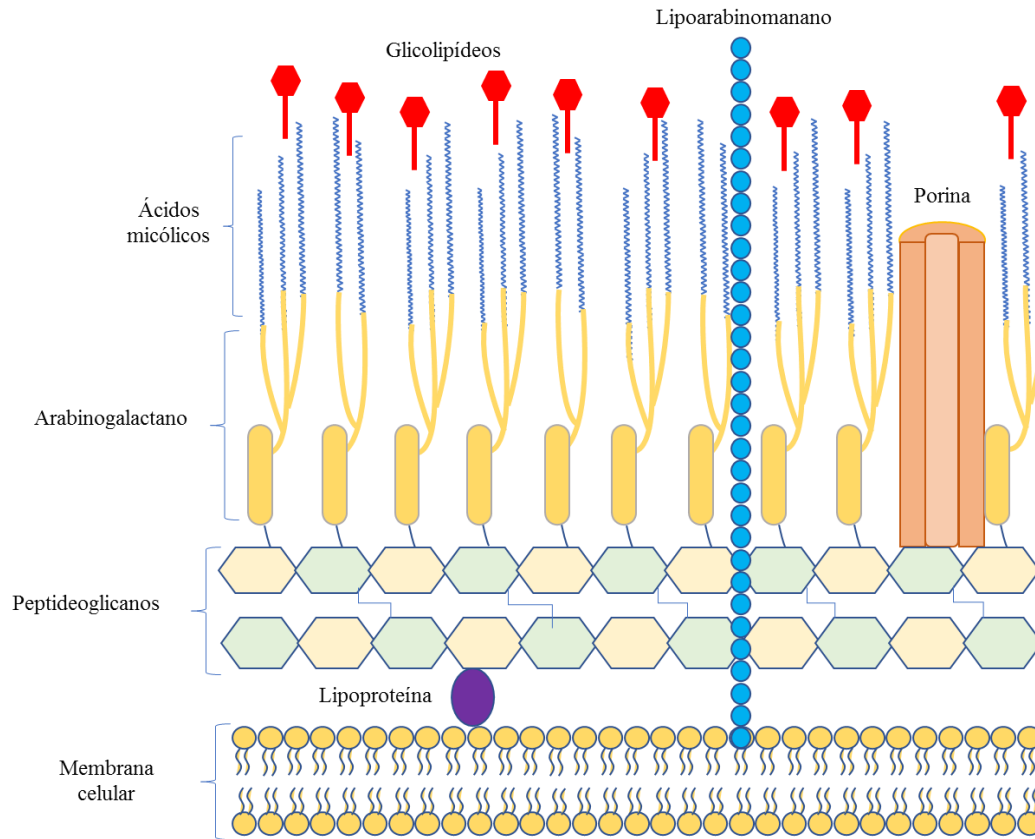
Em contrapartida, as MNT causam infecções oportunistas, sendo as principais espécies associadas a este tipo de infecção *Mycobacterium marinum*, *Mycobacterium ulcerans*, *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium haemophilum*, *Mycobacterium xenopi*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium simiae*, *Mycobacterium smegmatis*, *Mycobacterium vaccae*, *Mycobacterium terrae* e *Mycobacterium gordonae* (JOHANSEN; HERRMANN; KREMER, 2020).

2.1.1 *Mycobacterium tuberculosis*

A principal característica do *M. tuberculosis* é a composição do seu envelope celular, o qual é formado por quatro camadas: uma membrana plasmática, um espesso complexo de peptidoglicano-arabinogalactano, uma "micomembrana" ligada ao complexo de peptidoglicano-arabinogalactano por meio dos ácidos micólicos, e uma camada externa de glicolípídeos e lipoarabinomanano (Figura 1). Esta complexa estrutura microbiana faz com que o *M. tuberculosis* tenha uma reduzida permeabilidade do envelope celular o que lhe confere resistência frente a diversos compostos antimicrobianos, bem como uma alta taxa de sobrevivência em condições adversas (KALSCHEUER et al., 2019).

Durante muitos anos, até o século XIX, a TB era conhecida como tísica ou peste branca. Relatada desde o Egito antigo, foi confirmada definitivamente como uma doença infecciosa pelo cientista alemão Robert Koch, o qual conseguiu isolar e colorir pela primeira vez o bacilo *M. tuberculosis*, que ficou conhecido como o bacilo de Koch (ROSENDO; BEZERRA; LIMA, 2020). A principal forma de transmissão desse bacilo é por aerossóis, ou seja, pela inalação de partículas liberadas pelo indivíduo doente no ambiente. Existe a necessidade de uma soma de fatores para desencadear uma infecção bem sucedida, visto que um indivíduo que tem o primeiro contato com uma pessoa infectada pode desenvolver TB latente assintomática, sendo que menos de 10 % dos primeiros infectados desenvolvem a forma ativa da TB (SIA; RENGARAJAN, 2019).

Figura 1: Estrutura da parede celular e da membrana plasmática do *Mycobacterium tuberculosis*.



Fonte: adaptado de BROWN et al. (2015).

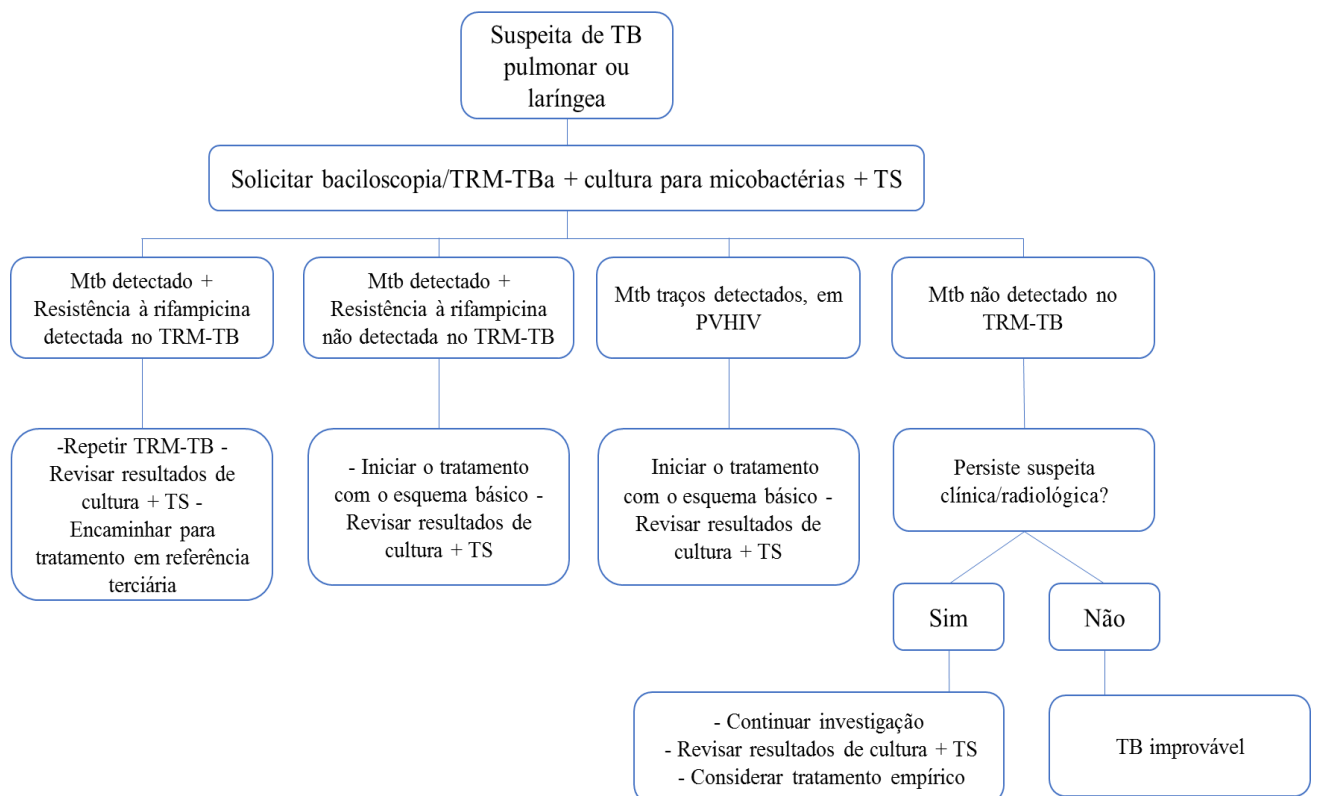
O *M. tuberculosis* pode afetar diversos órgãos causando patologias como a TB pleural, ganglionar, meningoencefálica e a osteoarticular, essas formas mais avançadas de TB acometem pessoas portadoras de imunodeficiências ou por quadros de imunodepressão por fármacos ou Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA/AIDS) (SILVA et al., 2021). A forma mais comum é a TB pulmonar, um tipo de pneumonia que evolui rapidamente, cujos sintomas iniciais são febre, dor no peito e tosse, e quando não tratada, a doença acaba enfraquecendo o paciente, que demonstra perda de peso, sudorese, tosse produtiva, podendo chegar a hemoptise (WEI et al., 2020). Além disso, a forma latente da TB tem se tornado tema central das discussões de como erradicar a doença, tendo em vista que nenhum teste identifica a presença desse patógeno, se o mesmo não está ativo, sendo que as pessoas que possuem essa condição estão suscetíveis a terem a TB, ao primeiro sinal de declínio imunológico (BEHR; EDELSTEIN; RAMAKRISHNAN, 2019).

A TB pulmonar se divide em primo-infecção, infecção primária e secundária. A primo-infecção se dá quando o indivíduo tem o primeiro contato com o bacilo, de difícil detecção

e sintomas não contundentes, é identificada pelo nódulo de Ghon, uma reação mediada por macrófagos que envolvem os alvéolos infectados formando pequenos nódulos. A infecção primária tem níveis de gravidade diferente, se subdividindo em forma aguda, insidiosa, e hipersensibilidade tuberculínica. A forma aguda é a mais grave, podendo evoluir para quadros severos, a forma insidiosa se apresenta como uma pneumonia comum afetando em maior número as crianças e, a hipersensibilidade tuberculínica é rara e pode causar além dos sintomas de TB primária, problemas oculares, cutâneos, reumatismo de Poncet e artralgia (SCHOELER et al., 2021).

Para o diagnóstico de TB seguem-se uma série de exames, sendo comum a realização de baciloscopia (microscopia), com coloração de Ziehl-Neelsen esse considerado o método menos oneroso, porém com uma sensibilidade de 60-70%, sendo menor nas amostras paucibacilares. Outros métodos para diagnóstico disponíveis são a cultura em meio Lowenstein-Jensen, além de análises de biologia molecular para detecção de cepas resistentes, como o tubo indicador de crescimento de micobactérias (MGIT), teste de resistência e radiografias, sendo assim foi criando um algoritmo para diagnóstico de TB, conforme demonstrado na Figura 2 (SILVA et al., 2021).

Figura 2: Algoritmo para a detecção de tuberculose em adultos.



Legenda: TB (tuberculose); TRM-TBa (teste rápido molecular para tuberculose ativa); TS (teste de sensibilidade); Mtb (*Mycobacterium tuberculosis*); PVHIV (pessoas vivendo com HIV).
Fonte: adaptado de SILVA et al. (2021)

O tratamento da TB compreende uma associação de fármacos. Nos anos 1940 foi lançado no Brasil o primeiro programa nacional de controle da TB, na época os fármacos usados no tratamento da doença eram a estreptomicina e o ácido para-aminossalicílico. Na década de 50 foi instaurado o tratamento à base de isoniazida e estreptomicina e a partir dos anos 60 foi adotado o esquema isoniazida (H), estreptomicina (S) e pirazinamida (Z), cujo período de tratamento era de 18 meses (esquema HSZ). Somente nos anos 70 foi adotado o tratamento de curta duração (esquema HRZ), que duravam seis meses e constituía o uso de rifampicina (R), isoniazida (H) e pirazinamida (Z), padrão esse que perdurou até 2009 quando é adicionado a esse complexo o etambutol (E) (RABAHI et al., 2017), conforme a Tabela 1.

Tabela 1- Tratamento de casos novos de tuberculose

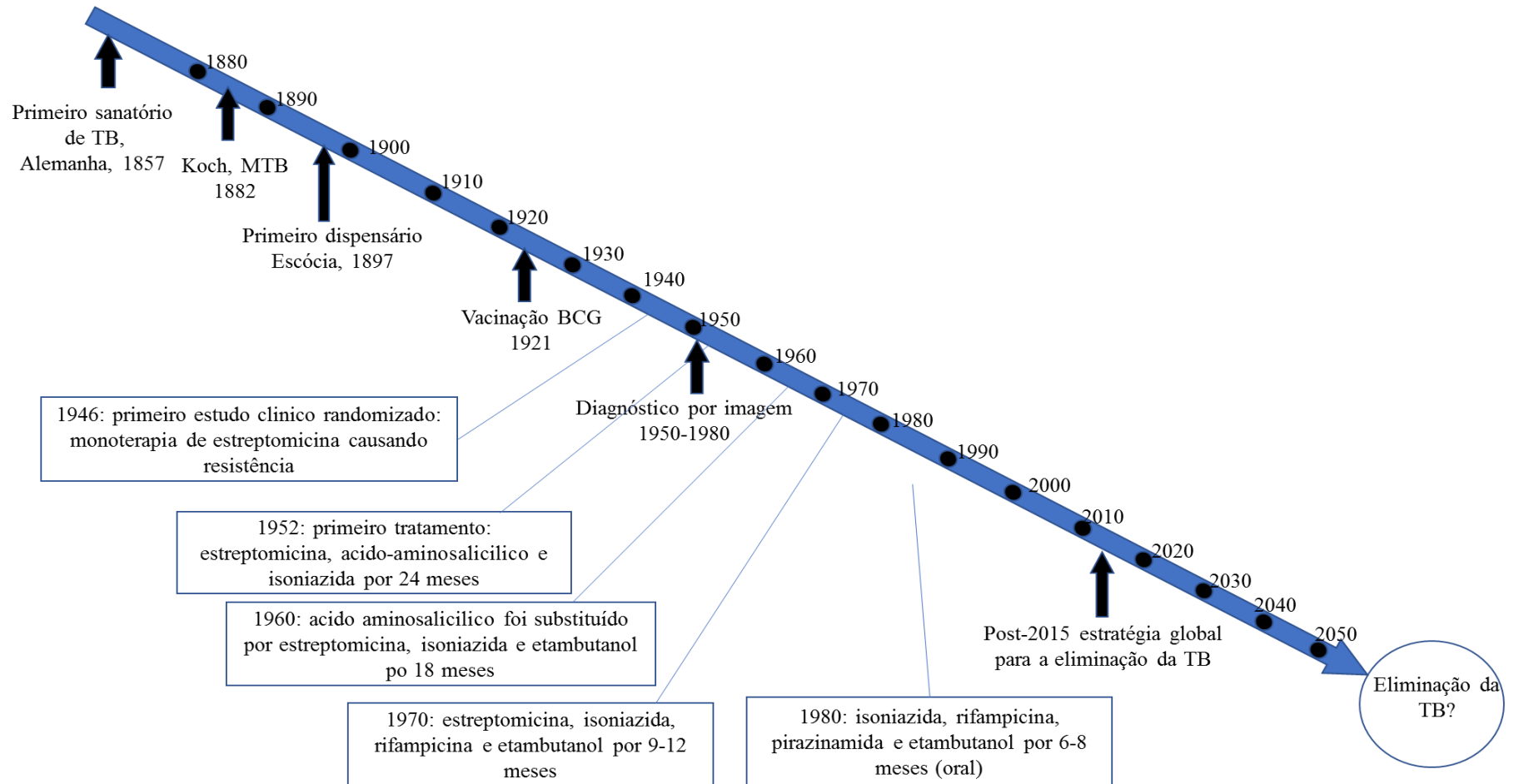
Esquema	Fármacos (mg/comprimido)	Peso (Kg)	Dose
RHZE Fase intensiva Por 2 meses	RHZE (150/75/400/275)	≤20	10/10/35/25 mg/kg/dia
		20- 35	2 comprimidos
		36-50	3 comprimidos
		> 50	4 comprimidos
RH Fase de manutenção Por 4 meses	RH (150/75)	≤20	10/10/35/25 mg/kg/dia
		20- 35	2 comprimidos
		36-50	3 comprimidos
		> 50	4 comprimidos

Legenda: R (rifampicina), H (isoniazida), Z (pirazinamida), E (etambutol).

Fonte: adaptado de RABAHI et al. (2017).

Para TB multiresistente (MDR) a OMS está prevendo um tratamento que consiste em bedaquilina, pretomanida e linezolida com ou sem moxifloxacina, previsto para pacientes com 15 anos ou mais que apresentarem MDR (WHO, 2022a). A única vacina desenvolvida para a prevenção de TB foi a Bacilo Calmette-Guerin (BCG), que continua fazendo parte do programa de imunização da Organização Mundial da Saúde (OMS) (KOUSHA et al., 2021). Em 2014, a OMS apresentou um plano para a erradicação da TB, em que até 2035 se tem a ambição de reduzir 90% as mortes, infecções e novos casos da doença, com a intenção de erradicar a doença até o ano de 2050 (UPLEKAR et al., 2015). Essa evolução desde os primeiros centros dedicados ao cuidado desses pacientes, passando pelo isolamento do bacilo por Robert Koch, o desenvolvimento da BCG e a evolução dos fármacos e tratamentos, estão demonstrados de forma resumida na Figura 3 (ANDRADE-OCHOA et al., 2015).

Figura 3: Linha do tempo demonstrando os principais acontecimentos relacionados ao diagnóstico e tratamento da tuberculose.



Fonte: adaptado de SCHITO et al. (2015).

2.2 Micobactérias não tuberculosas

As MNT são bactérias ambientais que causam infecções em animais aquáticos e são causadoras de infecções em seres humanos, dentre elas estão o *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium chelonae* e o *Mycobacterium marinum* (BEHRA et al., 2019). O *M. chelonae* faz parte do complexo *chelonae-abscessus* compartilhando o crescimento rápido e a resistência a diversos antibióticos assim como o *M. fortuitum* (JONES et al., 2019).

As MNT são conhecidas por causar infecções oportunistas em pessoas imunocomprometidas (JOHANSEN; HERRMANN; KREMER, 2020), dentre os principais exemplares está o *M. abscessus* que foi isolado primeiramente em 1952 de um abscesso no joelho de um paciente. Ao contrário de outros *Mycobacterium* que precisam de um hospedeiro, o *M. abscessus* pode viver no ambiente por um longo período de tempo (LOPEMAN et al., 2019). O *M. abscessus* teve diversas nomenclaturas ao longo do tempo, primeiramente era conhecido como uma espécie única, depois foi descoberto que na verdade esse patógeno fazia parte de um complexo que se subdividia em 3 subespécies, *M. abscessus abscessus*, *M. abscessus massiliense* e *M. abscessus bolletii* (LEE et al., 2015).

O crescimento do *M. abscessus* é rápido, o qual pode ser isolado em água e esgoto e apresenta colônias de tamanho e formatos variados, a forma de transmissão deste patógeno se dá através do complexo indivíduo-ambiente, não sendo possível comprovar a transmissão entre indivíduos (MOUGARI et al., 2016). Primariamente reconhecida como uma bactéria causadora de doenças em tecidos moles, o *M. abscessus* tem sido uma das MNT mais proeminentes em problemas pulmonares. Muito de sua virulência é possuir alta resistência contra os principais antibióticos utilizados no tratamento desse tipo de enfermidade, sendo as cepas de *M. abscessus* suscetíveis apenas a alguns fármacos como por exemplo: claritromicina, cefoxitina, aminoglicosídeos e tigeciclina (NESSAR et al., 2012).

O *Mycobacterium marinum* tem uma particularidade dentro as micobactérias patogênicas pois apresenta crescimento intermediário entre, 7 e 14 dias, tendo sido isolado pela primeira vez em 1926, sendo causador de erupções cutâneas de difícil tratamento (VINCENT; GUTIERREZ, 2005).

As espécies de MNT não tem um acompanhamento intensivo como o *M. tuberculosis*, dessa forma, os dados sobre essas infecções são imprecisos e desconexos, não propiciando a análise fidedigna desses dados epidemiológicos e seus meios de transmissão (SHIN; SHIN; SHIN, 2020). No Brasil, a notificação se dá apenas para *M. tuberculosis* em pacientes não ambulatoriais e para as cepas de *M. abscessus*, *M. chelonae* e *M. fortuitum* em condições de

internação; as outras cepas desse gênero não são citadas e nem precisam ser notificadas ou identificadas (BRASIL, 2021b).

O isolamento e a diferenciação das infecções causadas pelas MNT são realizadas por baciloscopia e cultura, cujo tratamento empírico irá depender da espécie isolada e, além disso, cepas mais virulentas, como o *M. abscessus*, que devem ser tratadas assim que identificada a primeira cultura positiva (DALEY et al., 2020). O tratamento para as infecções causadas pelo *Mycobacterium* spp. consiste em uma associação de fármacos que devem ser ingeridos de forma diária e contínua, por tempo predeterminado (Tabela 2). Sabe-se que a terapia medicamentosa é fundamental para o sucesso do tratamento, e que sua utilização incorreta pode causar diversas complicações ao paciente e, conseqüentemente, aumento da resistência aos antimicrobianos (DOS SANTOS PEIXOTO, 2019).

Tabela 2 - Tratamento preconizado para micobactérias não-tuberculosas não-resistentes.	
Espécie de micobactéria	Associação de fármacos
<i>M. abscessus complex</i>	amicacina, cefoxitina, imipenem, tigeciclina, linezolida, macrolídeo
<i>M. fortuitum</i>	sulfonamidas, amicacina e cefoxetina
<i>M. chelonae</i>	aminoglicosídeos, macrolídeos
<i>M. marinum</i>	macrolídeos, etambutol e rifampicina

Fonte: adaptado de PORVAZNIK; SOLOVIČ; MOKRÝ (2016); CANETTI et al., (2022).

Essas bactérias possuem uma resistência intrínseca, e com o uso indiscriminado de antibióticos, esses patógenos começaram a se modificar, adquirindo resistência a alguns desses medicamentos, representando um risco alto para a saúde da população com um todo (BANIN; HUGHES; KUIPERS, 2017). Uma alternativa para essa demanda é o uso de plantas medicinais, seja como adjuvantes ou como alternativas ao tratamento convencional com esses fármacos (SHARIFI-RAD et al., 2020).

2.3 Produtos naturais com potencial terapêutico

O uso de plantas medicinais data dos tempos mais remotos, tendo-se registro do uso desse método pelos povos sumérios, egípcios e chineses, sendo os gregos os primeiros a catalogar várias espécies. Apesar disso, somente em 1806 foi isolado o primeiro princípio ativo de uma planta, a morfina, pelo farmacêutico Friedrich Wilhelm Serturner, dando início ao estudo mais detalhado desses compostos (ŠANTIĆ et al., 2017). Até meados do século XX, poucos compostos haviam sido isolados de plantas devido ao longo processo de purificação necessário. A principal descoberta dessa época foi a dos antibióticos, isolados dos fungos *Penicillium* e

Cephalosporium. Nos anos pós-guerra houve crescimento da indústria química que investiu pesado no isolamento de compostos sintéticos (PHILLIPSON, 2001). Essa abordagem mais positivista e o aumento da demanda diminuiu o interesse da pesquisa utilizando produtos naturais, realidade essa que vem sendo modificada através do incentivo da OMS e de programas nacionais de utilização dos fitoterápicos (MATTOS et al., 2018).

Cada vez mais se estuda as atividades antimicrobianas de plantas potencialmente medicinais, em que muitas espécies apresentam grande quantidade de metabólitos secundários, tais como flavonóides, taninos, alcalóides, cumarinas, óleos essenciais, saponinas, dentre outros. Esses compostos naturais, denominados de metabólitos secundários vegetais que as espécies produzem, servem para sua própria proteção contra os microrganismos, radiação solar, insetos e animais herbívoros, dentre outras funções importantes que garantem vantagens para a sobrevivência dessas espécies (MANANDHAR; LUITEL; DAHAL, 2019). Além disso, em virtude das propriedades farmacológicas dessas plantas, uma vasta parcela da população (cerca de 80%) ainda utiliza chás e infusões como a única forma de tratamento para as mais diversas doenças, principalmente populações rurais e em países menos desenvolvidos (DAVIES-BOLORUNDURO et al., 2021; GUPTA et al., 2017).

2.3.1 Ervas-de-Passarinho

Os viscos ou ervas-de-passarinho são plantas que têm a capacidade de fixar suas raízes em outras árvores, sendo amplamente distribuídas através das fezes de pássaros que comem seus frutos e espalham essas espécies pelas florestas, causando a morte de muitas árvores (GRIEBEL; WATSON; PENDALL, 2017). Conhecidas por serem plantas hemiparasitas, classificadas em parasitas do caule e da raiz, as ervas-de-passarinho pertencem à família Loranthaceae/Viscaceae, que se subdivide nos gêneros *Loranthus* (*Tripodanthus*), *Arceuthobium* e *Viscum*. A principal característica dessa família é o fato que elas são hemiparasitas, ou seja, além de utilizar a seiva da outra planta, elas também realizam fotossíntese (VIKRAM, 2021).

Desde a antiguidade essas plantas são utilizadas topicamente na confecção de curativos, no qual os povos do norte da Europa e mediterrâneo tinham essas espécies como sagradas, sendo inclusive veneradas pelos druidas, acreditando que em cada árvore onde o parasita crescesse, traria alguma vantagem ou “poder” à erva (AMBROSIO et al., 2020). O uso na medicina tradicional dessa família de plantas já é bem conhecido a vários séculos, mas com o avanço das pesquisas no século XX, cientistas começaram a pesquisar sobre os compostos presentes nessas plantas (SOBERÓN et al., 2010). Alguns estudos demonstraram atividade anticâncer, imunomoduladora, antidiabética, hepatoprotetora, neurofarmacológica,

antibacteriana e antifúngica (GUPTA et al., 2017; SOBERÓN et al., 2007; SZURPNICKA; KOWALCZUK; SZTERK, 2020).

2.3.2 *Tripodanthus acutifolius*

O gênero *Tripodanthus* pertence à família *Loranthaceae* e é encontrado na América do Sul, se dividindo em três espécies: *Tripodanthus flagellaris* (Chamisso & Schlechtendal) Van Tieghem, *Tripodanthus acutifolius* (Ruiz & Pavón) Von Tieghem, e *Tripodanthus belmirensis* (Roldán & Kuijt). Enquanto *T. acutifolius* pode ser encontrado na Venezuela, Equador, Argentina, Bolívia, Paraguai, Uruguai e Brasil, as outras espécies se limitam a alguns países, como o *T. flagellaris*, encontrado na Argentina, Uruguai e sul do Brasil e o *T. belmirensis*, encontrado somente na Colômbia (AMICO et al., 2012).

T. acutifolius pode ser chamado também de *Phrygilanthus acutifolius* (Ruiz & Pavón) Eichler, *Tripodanthus eugenoides* Thieg., *Tripodanthus destructor* Thieg., *Tripodanthus ligustrinus* Thieg., e *Tripodanthus suaveolens* Thieg (AMICO et al., 2012). É um hemiparasita com afinidade para Leguminosas, Anacardiáceas, Sapindáceas, Zigofiláceas e Rosáceas. No Brasil, a infestação desta espécie é bastante comum na região sudeste, afetando o crescimento de árvores ornamentais dos gêneros *Cupressus*, *Casuarina* e *Ligustrum* e pode afetar a produção de árvores frutíferas como as espécies de *Citrus* spp. e *Mangifera indica* L. (LEAL; BUJOKAS; BIONDI, 2006; RICCO et al., 2008). Por afetar diversos tipos de árvores, desde espécies ornamentais a nativas, essa espécie de erva-de-passarinho é considerada uma espécie agressiva (ROTTA, 2004). Mesmo sendo considerado um parasita não específico por não prezar por árvores de apenas uma espécie ou gênero (RICCO et al., 2008), o *T. acutifolius* demonstra uma certa especificidade pelo *Ligustrum lucidum* (LEAL; BUJOKAS; BIONDI, 2006).

T. acutifolius é considerada hemiparasita pela sua capacidade de sintetizar seus próprios metabólitos, tendo em vista que suas folhas apresentam estômatos e clorofila, o que faz com que essa espécie não depende totalmente da planta parasitada, retirando de seu hospedeiro apenas minerais através de seus haustórios (ROTTA, 2004). Dentre as características morfológicas, apresenta formato de cipó com corpo nodoso, podendo alcançar até 5 metros de comprimento, tendo a capacidade de se espalhar por várias plantas (TAVARES JUNIOR, 2009). Apresenta folhas com muitas variações, tanto em seu tamanho como em sua dimensão, e isso se deve ao nível de luminosidade ao qual a planta estará exposta. Possui flores hermafroditas ou unissexuais, normalmente em tríades, variando de cor desde o amarelo, laranja, vermelho e verde-oliva, com média de comprimento de 1,4 cm, frutos pequenos e ovóides (Figura 4) (CAIRES et al., 2009; ROTTA, 2004).

Figura 4: *Tripodanthus acutifolius* von Thieg.



Fonte: UFRGS - Soares (2011) (autoria da foto: Luciano Rodrigues Soares)

Algumas de suas partes já foram analisadas para as mais diversas atividades, como a anti-inflamatória, hemostática, uso tópico em queimaduras e entorses, como adjuvante em dores estomacais e problemas hepáticos e antimicrobianas, estudos realizados com extratos de suas folhas em bactérias Gram negativas (APAZA et al., 2019; EICHELBAUM et al., 2020; SOBERÓN et al., 2010). A pesquisa dessa espécie foi baseada no saber popular, essa interação do conhecimento popular e da ciência, conforme estudo de Daud, Gallo e Sánchez Riera (2005), que trouxe que o extrato hidroetanólico do *T. acutifolius* teve atividade, inibindo o crescimento de bactérias Gram positivas e Gram negativas. Enquanto Soberón et al. (2006) demonstraram que essa planta tem potencial antimicrobiano em mais de um meio de extração, tais como infusão, decocção e tintura, em que essa última apresentou um melhor resultado antimicrobiano. Outro estudo, realizado por Soberón e colaboradores (2007), relataram a baixa toxicidade desta planta ao compará-la com outras plantas popularmente utilizadas pela população. Além disso, Daud, Gallo e Sánchez Riera (2005) avaliaram o efeito diurético dos extratos de *T. acutifolius*, no qual foi verificada ação diurética em todos os extratos testados. Intersimone, Thoene e Riera (2006) analisaram os extratos aquoso e etanólico e tiveram atividade anti-inflamatória, analgésica e antipirética em ratos.

Estudos demonstraram a presença de diversos compostos como: flavonóides (rutina, nicotiflorina, hiperósido e isoquercetrina), taninos condensados e catequinas (catequina, epicatequina e catequina-4- β -ol) e, também, o tripodantosídeo, principalmente nas partes aéreas

da planta (RICCO et al., 2008; SOBERÓN et al., 2010). Essa classe de compostos tem a capacidade de quelar espécies reativas, ajudando assim no controle da oxirredução do organismo, agindo em processos inflamatórios e protegendo organismo do estresse oxidativo (ABRAHAMS et al., 2019). Além disso, sabe-se que a ação antimicrobiana pode ter relação com a presença dos compostos fenólicos, prevenindo a criação de biofilmes e a oxidação de alimentos (TAKÓ et al., 2020).

Sabe-se que esses compostos auxiliam no controle do crescimento *in vitro* de diversas bactérias (ALIBI; CRESPO; NAVAS, 2021), assim como os terpenóides, carvacrol e timol já se mostraram eficazes e com atividade antimicrobiana quando expostos a *M. tuberculosis* e *M. bovis* (ANDRADE-OCHOA et al., 2015).

2.4 Plantas medicinais e *Mycobacterium* sp.

Visto como uma alternativa no tratamento e acompanhamento da TB, a medicina tradicional tem sido utilizada como uma porta de entrada para o estudo de novos fármacos e compostos ativos contra o *M. tuberculosis* (FREITAS, 2020). Gupta et al. (2017) realizaram uma revisão, trazendo um compilado de artigos que testaram o uso de plantas medicinais contra cepas de *M. tuberculosis*, em que 23 espécies distintas tiveram ação inibitória contra cepas multirresistentes do patógeno; dentre essas, 13 foram ativas contra o patógeno em estado de dormência, fato esse que auxiliaria no tratamento de TB latente. No estudo realizado por Jethva et al. (2020), foram escolhidas 11 plantas e obtidos três diferentes extratos de cada uma, e posteriormente, foi realizado o teste de sensibilidade de *M. tuberculosis*, em que quatro das plantas testadas obtiveram uma taxa de inibição de crescimento superior à 70%, ou seja, demonstraram atividade antimicrobiana contra essa bactéria.

No trabalho de Chang et al. (2020) foram testadas algumas bebidas preparadas a base de plantas e também extratos das plantas na inibição do crescimento de *M. tuberculosis* e outras bactérias. Das nove plantas testadas, quatro tiveram atividade inibitória satisfatória, tanto no crescimento de *M. tuberculosis*, quanto nas outras bactérias estudadas (CHANG, 2020). No estudo de Leitão et al. (2013), foi realizada uma entrevista com vendedores de plantas medicinais, em que foram escolhidas 36 plantas para a análise da atividade antimicrobiana das mesmas, sendo que duas ervas-de-passarinho da família *Loranthaceae* tiveram atividade antimicrobiana contra *M. tuberculosis*, em seu extrato hexânico, e não na forma de chá, como utilizada popularmente (LEITÃO et al., 2013).

Em se tratando do *T. acutifolius*, a avaliação da atividade antibacteriana foi realizada em cepas Gram positivas, de *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina (MRSA) (SOUZA et

al., 2014) e também bactérias Gram negativas, de *Pseudomonas aeruginosa* (SOBERÓN et al., 2010), além de atividade antifúngica (LEAL, 2021), tendo resultados significativos na inibição do crescimento microbiano porém não foram encontrados registros da análise antimicrobiana dessa planta contra cepas de *Mycobacterium* spp.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos de *T. acutifolius* em cepas de *Mycobacterium* spp.

3.2 Objetivos específicos

- Revisar as plantas com potencial antimicobacteriano contra *Mycobacterium tuberculosis*
- Avaliar por meio da literatura quais os metabólitos secundários mais efetivos contra *Mycobacterium tuberculosis*
- Obter extrato aquoso bruto das flores e folhas de *T. acutifolius*
- Realizar o fracionamento dos extratos brutos utilizando 3 solventes: Hexano; Acetato de Etila; Metanol
- Analisar e quantificar os compostos fitoquímicos majoritários em cada fração do extrato de *T. acutifolius*;
- Testar a atividade antimicrobiana das frações dos extratos de *T. acutifolius* frente às diferentes espécies de *Mycobacterium massiliense*, *Mycobacterium bolletii*, *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium fortuitum* e *Mycobacterium marinum*;

CAPÍTULO II
ARTIGOS

ARTIGO I

**POTENCIAL DE EXTRATOS VEGETAIS FRENTE AO *Mycobacterium tuberculosis*:
UMA REVISÃO INTEGRATIVA**

Revista: Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences

Qualis: B1

Área: Interdisciplinar

Potential of plant extracts against *Mycobacterium tuberculosis*: an integrative review

Plant extracts against *Mycobacterium tuberculosis*

Tiago Antônio Heringer^{1*}; Chana de Medeiros da Silva²; Lia Gonçalves Possuelo².

¹ Mestrando do programa de pós-graduação em Promoção da Saúde da Universidade de Santa Cruz do Sul

² Docente do programa de pós-graduação em Promoção da Saúde da Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC

Abstract

Mycobacterium tuberculosis is the main causative agent of tuberculosis, one of the infectious diseases that cause the most deaths in the world. Medicinal plants are a source of new bioactive compounds with different functions for the plant, and the way of extracting these compounds determines their bioactivity. **Objective:** to investigate which plant species have already been tested and which main secondary metabolites are active against *M. tuberculosis*. **Methodology:** The works included were *in vitro* experimental studies, which used medicinal plant extracts in order to assess antimycobacterial activity by microdilution method, against *M. tuberculosis*, between 2011 and 2021, open access and in Portuguese and English. The electronic databases Web of Science and PubMed were used, using the descriptors “medicinal plants AND against AND *M. tuberculosis*”. **Results:** 12 articles were found, in which they report the antimicrobial activities of 20 species of plants. Among the studied species, four of them stood out with MIC<10 µg/mL: *Artemisia abyssinica*, *Duroia macrophylla* Huber, *Uvaria rufa*, and *Bridelia micrantha* (Berth). The variety of secondary metabolites was predominant for antimycobacterial activity, highlighting alkaloids, terpenes and phenolic compounds as the main compounds isolated from these species. **Conclusion:** the number of secondary metabolites obtained in extraction is decisive in antimycobacterial activity.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*; Medicinal plants; Secondary metabolites

ARTIGO II

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Tripodanthus acutifolius* FRENTE À
MICOBACTÉRIAS NÃO TUBERCULOSAS.

Revista: Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences

Qualis: B1

Área: Interdisciplinar

Atividade antimicrobiana de *Tripodanthus acutifolius* frente à micobactérias não tuberculosas.

Tiago Antônio Heringer¹; Chana Medeiros da Silva²; Lia Gonçalves Possuelo²

¹ Mestrando do programa de pós-graduação em Promoção da Saúde da Universidade de Santa Cruz do Sul

² Docente do programa de pós-graduação em Promoção da Saúde da Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC

RESUMO

Introdução: As micobactérias não tuberculosas causam diversas infecções oportunistas tendo seu tratamento dificultado pela resistência aos antimicrobianos, seja a intrínseca ou adquirida. O bioma em geral e as plantas em especial são uma fonte atrativa para a avaliação de compostos, com atividade antimicrobiana. O *Tripodanthus acutifolius*, é uma planta encontrada na América do Sul cuja atividade antimicrobiana tem sido descrita. **Objetivo:** Avaliar a atividade antimicrobiana de *T. acutifolius* contra micobactérias não tuberculosas de importância clínica. **Metodologia:** estudo experimental, *in vitro*. As partes aéreas do *T. acutifolius* foram colhidas no mês de janeiro de 2022, secas e separadas em folhas e flores, sendo realizada a extração por maceração do extrato aquoso bruto, os quais foram fracionados com 3 solventes de diferentes polaridades: hexano, acetato de etila e metanol. Posteriormente, os extratos foram liofilizados e com eles testados a CIM, utilizando técnica de microdiluição com Resazurina (REMA). As micobactérias selecionadas foram as de crescimento rápido/intermediário, causadoras de infecções oportunistas, sendo elas: *Mycobacterium bolletii*, *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium fortuitum* e *Mycobacterium marinum*. **Resultados:** Entre as cepas testadas, a espécie *M. marinum* teve seu crescimento inibido pelo extrato aquoso bruto das flores e pela fração de acetato de etila das folhas de *T. acutifolius*, com um CIM de 200 µg/mL, sendo os extratos não antagônicos ao antibiótico Ciprofloxacino quando testados, a fração hexânica da flores apresentou atividade sinérgica ao antibiótico, foi verificada a presença de compostos fenólicos nas frações do extrato. **Conclusão:** o extrato aquoso bruto das flores e a fração de acetato de etila das folhas de *T. acutifolius* possuem potencial antimicobacteriano frente a *Mycobacterium marinum*.

CAPÍTULO III
CONCLUSÕES GERAIS

Tendo em vista os resultados obtidos nessa dissertação podemos concluir que:

- A medicina tradicional tem um papel importante na obtenção de novas matrizes vegetais para estudo;
- Os metabólitos secundários são determinantes na capacidade antimicobacteriana *in vitro* dos extratos obtidos das plantas medicinais
- Várias plantas já foram analisadas para ação antimicobacteriana e algumas delas tem se mostrado promissoras na descoberta de novos compostos;
- A espécie *Tripodanthus acutifolius* demonstrou poder antimicobacteriano contra uma das cepas estudadas;
- O *Mycobacterium marinum* foi o patógeno que apresentou sensibilidade a dois dos extratos obtidos em nosso estudo;
- O extrato aquoso bruto das flores e a fração de acetato de etila das folhas do *Tripodanthus acutifolius*, demonstraram os melhores resultados;
- Outros testes foram realizados com bactérias de importância clínica tendo resultados promissores;
- A análise de sinergia dos extratos com o antibiótico Ciprofloxacino não apresentou interferências do extrato na ação do antibiótico.

CAPÍTULO IV

NOTA A IMPRENSA

ERVA-DE-PASSARINHO E O TRATAMENTO DE DOENÇAS INFECCIOSAS DE PELE

Foi realizado um estudo com a Erva-de-passarinho (*Tripodanthus acutifolius* von Thieg), planta encontrada em todo sul da América do Sul, que vem sendo estudada ao longo dos últimos anos por diversos pesquisadores, no Brasil e no mundo. A Erva-de-passarinho é encontrada principalmente em árvores ornamentais como ligustros. Seu extrato da Erva-de-passarinho é um potencial produto para estudo de novos antibióticos para o tratamento de fungos e bactérias oportunistas.

As bactérias do gênero *Mycobacterium*, algumas delas conhecidas por causar doenças de pele em pessoas que trabalham com frutos do mar ou que estão expostos à tanques de criação ou à pesca, apresentam alta taxa de resistência aos antibióticos regularmente utilizados, sendo necessários novos estudos para encontrar soluções para o tratamento dessas infecções.

As análises *in vitro* deste estudo apontaram para um resultado promissor contra a espécie *Mycobacterium marinum*, uma das principais causadoras de infecções oportunistas em pescadores e piscicultores. Os extratos da Erva-de-passarinho apresentaram atividade antimicobacteriana contra *M. marinum*, entretanto são necessários estudos complementares *in vivo*, para validação dessa planta como potencial fonte de antibióticos, assim como entender a melhor forma de utilização dessa planta

Estudo trata-se de uma dissertação de mestrado desenvolvida no Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde da Universidade de Santa Cruz do Sul, sendo o pesquisador responsável, o mestrando Tiago Antônio Heringer, que foi orientada pela Dr^a Lia Gonçalves Possuelo e coorientada pela Dr^a Chana Medeiros da Silva. O trabalho foi realizado em parceria com a Universidade Federal de Rio Grande e apoio Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

CAPÍTULO V

RELATÓRIO DE CAMPO DE TRABALHO

Me formei no curso de Biomedicina pela Universidade de Cruz Alta, no mês de setembro de 2020, em meio ao auge da pandemia de COVID-19, fui bolsista de iniciação científica durante 4 semestres, trabalhando no laboratório de plantas medicinais e estresse oxidativo. Após a conclusão do curso resolvi seguir o plano de ir para a área acadêmica. Me inscrevi no processo seletivo do Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC). Após aprovação para ingresso na turma 2021/1, tive como Orientadora a Profa. Lia Possuelo. Começadas as aulas, ingressei no Laboratório de diagnóstico molecular da UNISC, para auxiliar na rotina e me integrar aos projetos capitaneados pela orientadora. Discutimos o tema da dissertação e resolvemos fazer um projeto de sequenciamento genético do vírus Sars-Cov-2. Passados alguns dias, surgiu a oportunidade de fazermos um projeto em conjunto com a Universidade Federal de Rio Grande (FURG) para avaliação de compostos bioativos como possíveis antimicobacterianos, então decidimos seguir o projeto para esse tema. Montamos uma equipe com os colaboradores Profa. Chana Medeiros Silva (UNISC), o Prof. Pedro Eduardo Almeida da Silva (FURG) e a Profa. Daniela Fernandes Ramos, juntamente com seus bolsistas para a bioprospecção de fitoterápicos contra cepas de *Mycobacterium* sp.

Iniciamos discutindo quais cepas haviam disponíveis no laboratório da FURG e que fossem de interesse para a análise, chegando em 4 espécies. Logo após, discorremos sobre a necessidade de uma planta com atividade antimicrobiana, sendo o *Tripodanthus acutifolius*, espécie já estudada pela Profa. Chana em seu doutorado, a espécie escolhida. No primeiro momento escrevi o projeto e procedi os trâmites de avaliação ética, como registro no SISGEN e liberação da necessidade de avaliação do CEP.

O projeto foi finalizado no início do segundo semestre, sendo apresentado no mês de outubro de 2021, foi ajustado e colocado em prática no mês subsequente. Devido à estiagem, a floração da planta, que foi utilizada no trabalho, foi atrasada, necessitando a espera por essa condição botânica para a realização da coleta. A coleta foi realizada na primeira semana de janeiro. Logo após, foi realizada a secagem das partes e a moagem das folhas e das flores. Foi obtido o extrato aquoso bruto e congeladas as alíquotas para posterior liofilização e particionamento por polaridades. Foi decidido fracionar em coluna cromatográfica em 3 solventes de polaridades diferentes (hexano, Acetato de etila e metanol), após particionadas foi necessário esperar a manutenção do liofilizador para ser possível dar continuidade na análise micobacteriológica, foi realizada a liofilização no mês de agosto na UNIVATES, devido à dificuldade de manutenção dos liofilizadores da UNISC, o projeto seguiu no fim de agosto, quando foram realizadas as análises com as bactérias na FURG devido aos níveis de

biossegurança necessários para a manipulação das mesmas serem altos para os padrões de biossegurança dos laboratórios da UNISC.

Durante esse período também participei do projeto monitoramento da prevalência de SARS-COV-2 em estudantes do ensino superior presencial da Universidade de Santa Cruz do Sul – 2021/2 e 2022/2 que foi executado no Campus da UNISC, com a participação de uma grande equipe a fim de monitorar a prevalência da COVID – 19 nos alunos, sendo encerrado em maio do corrente ano após quatro etapas.

No mês de agosto de 2022 me desloquei até a FURG com as amostras devidamente liofilizadas para a realizar a exposição das mesmas às cepas de *Mycobacterium* sp. escolhidas, sendo elas bactérias de crescimento rápido ou moderado, causadoras de doenças oportunistas de pele em pessoas expostas. Fui apresentado aos profissionais da Universidade, do laboratório de micobacteriologia. Realizamos um treinamento rápido de biossegurança, preparamos os extratos de acordo com os protocolos e expomos as bactérias à cada uma das frações, aguardando o crescimento para o teste colorimétrico para a detecção do crescimento ou inibição das cepas analisadas.

Após duas semanas de muito aprendizado e troca de experiências voltei à UNISC com resultados parciais animadores e aguardei o fim das análises realizados pelas colegas da FURG, enquanto isso realizamos análises de composição fitoquímica e capacidade antioxidante dos extratos. Foram escritos dois artigos frutos dessa pesquisa, uma revisão sobre as plantas medicinais utilizadas na obtenção de extratos frente ao *Mycobacterium tuberculosis* e os metabólitos secundários com atividade antimicobacteriana dessas plantas e outro manuscrito sobre a ação dos extratos de *Tripodanthus acutifolius* frente a algumas espécies de *Mycobacterium* sp.

Além dos artigos da dissertação participei da escrita de outros artigos, sendo um deles uma revisão da importância das plantas medicinais na promoção da saúde, além de organizar eventos juntamente com minhas orientadoras, como o II Congresso Estadual de Políticas Públicas e Controle Social no Sistema Prisional e o 2º Encontro Estadual de Plantas Bioativas. Os congressos do programa de pós graduação também foram fonte de aprendizado e troca de conhecimentos com colegas e estudiosos de diversas áreas.

Depois de 2 anos de muito trabalho e estudos chegamos ao fim de mais essa etapa, a conclusão da Dissertação e obter o título de mestre. Ficarão os ensinamentos, as amizades e as experiências compartilhadas nesse período.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAMAS, S. et al. Antioxidant effects of curcumin in models of neurodegeneration, aging, oxidative and nitrosative stress: A review. **Neuroscience**, v. 406, [s.n.], p. 1-21, 2019.
- ALIBI, S.; CRESPO, D.; NAVAS, J. Plant-derivatives small molecules with antibacterial activity. **Antibiotics**, v. 10, n. 3, p. 1–19, 2021.
- AMBROSIO, R. L. et al. The bactericidal activity of protein extracts from *Loranthus europaeus* berries: A natural resource of bioactive compounds. **Antibiotics**, v. 9, n. 2, p. 47. 2020.
- AMICO, G. C. et al. Evolutionary history of the South American mistletoe *Tripodanthus* (Loranthaceae) using nuclear and plastid markers. **Systematic Botany**, v. 37, n. 1, p. 218–225, 2012.
- ANDRADE-OCHOA, S. et al. Quantitative structure-activity relationship of molecules constituent of different essential oils with antimycobacterial activity against *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 1, p. 1–11, 2015.
- APAZA T, L. et al. Flavonoids of *Tripodanthus acutifolius* inhibit TNF- α production in LPS-activated THP-1 and B16-F10 cells. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 242, n. 2, p. 1, 2019.
- AQUINO NETO, F. R. de; NUNES, D. S. S. Cromatografia: princípios básicos e técnicas afins. Rio de Janeiro: **Interciência**, v. 1, [s.n.], p. 64-8, 2003.
- BANIN, E.; HUGHES, D.; KUIPERS, O. P. Bacterial pathogens, antibiotics and antibiotic resistance. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 41, n. 3, p. 450-452, 2017.
- BARBOSA, D. A.; LUCENA, R.F.P.; CRUZ, D. D.. Traditional knowledge as basis for phytochemical prospecting of *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult.) TD Penn. aiming at conservation in the Brazilian semi-arid zone. **Ethnobotany Research and Applications**, v.18, p. 1-10, 2019.
- BEHR, M. A.; EDELSTEIN, P. H.; RAMAKRISHNAN, L. Is *Mycobacterium tuberculosis* infection life long? **The BMJ**, v. 367, n.5770, p.1-7, 2019.
- BHATTACHARYA, J.; MOHANDAS, S.; GOLDMAN, D. L.Nontuberculous mycobacterial infections in children. *Pediatrics in Review*, v. 40, n. 4, p. 179–190, 2019.
- BRASIL. Boletim Epidemiológico - tuberculose 2021. Ministério da Saúde [s.l: s.n.]. 2021a Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2021/marco/24/boletim-tuberculose-2021_24.03>.
- BRASIL., Orientações para notificação de surtos infecciosos em serviços de saúde **Ministério da Saúde**. Brasília: [s.n.]. 2021b Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/orientacoes-para->

[notificacao-de-surtos-infecciosos-em-servicos-de-saude.pdf>.](#)

BROWN, L. et al. Through the wall: extracellular vesicles in Gram-positive bacteria, mycobacteria and fungi. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n. 10, p. 620-630, 2015.

BUSATTO, C. et al. *Mycobacterium avium*: an overview. **Tuberculosis**, v. 114, n. 6, p. 127–134, 2019.

CAIRES, C. S. et al. Frugivoria de larvas de Neosilba McAlpine (Diptera, Lonchaeidae) sobre *Psittacanthus plagiophyllus* Eichler (Santalales, Loranthaceae) no sudoeste de Mato Grosso do Sul, Brasil TT - Larval frugivory of Neosilba McAlpine (Diptera, Lonchaeidae) on Psittacan. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, n. 2, p. 272–277, 2009.

CANTELLI, C. R.; DASSONVILLE-KLIMPT, A.; SONNET, P. A review of current and promising nontuberculous mycobacteria antibiotics. **Future Medicinal Chemistry**. v. 13, n. 16, p. 1367-1395, 2021.

CHANG, Hyeon-Jun et al. Antioxidant and antibacterial effects of medicinal plants and their stick-type medicinal concentrated beverages. **Food Science and Biotechnology**, v. 29, n. 10, p. 1413-1423, 2020.

CHIN, K. L. et al. Pulmonary non-tuberculous mycobacterial infections: current state and future management. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 39, n. 5, p. 799-826, 2020.

COELHO, R. P. et al. Protective effect of the hydroalcoholic extract of *Tripodanthus acutifolius* in hypercholesterolemic Wistar rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 97, [s.n.], p. 300-309, 2018.

DALCOLMO, M. et al. Resistance profile of drugs composing the “shorter” regimen for multidrug-resistant tuberculosis in Brazil, 2000–2015. **European Respiratory Journal**, v. 49, n. 4, p. 1-4, 2017.

DALEY, C. L. et al. Treatment of nontuberculous mycobacterial pulmonary disease: an official ATS/ERS/ESCMID/IDSA clinical practice guideline. **Clinical Infectious Diseases**, v.71, n. 4, p. 905–913, 2020.

DAUD, A.; GALLO, A.; SÁNCHEZ RIERA, A. Antimicrobial properties of *Phrygilanthusacutifolius*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, n. 2, p. 193–197, 2005.

DA SILVA, Camila Rosa. Interdisciplinaridade: conceito, origem e prática. **Revista Artigos. Com**, v. 3, [s.n.], p. e1107-e1107, 2019.

DE AZEREDO COUTINHO, M. M.; FELIX, R. G. A interdisciplinaridade e/ou transdisciplinaridade na educação profissional e tecnológica. **Revista Inova Ciência & Tecnologia/Innovative Science & Technology Journal**, v. 4, n.2, p. 46-53, 2018.

DELGHANDI, M. R. et al. Identification *Mycobacterium* spp. in the natural water of two austrian rivers. **Microorganisms**, v. 8, n. 9, p. 1–11, 2020.

DOS SANTOS PEIXOTO, A. et al. Treatment of Sensitive Tuberculosis-Mechanisms of Action and Resistance. **Biomedical Journal of Scientific & Technical Research**, v. 18, n. 4, p. 13715-13718, 2019.

- DUBEY, Widhi et al. Overview of *Mycobacterium*: A Review. **European Journal of Molecular & Clinical Medicine**, v. 7, n. 11, p. 6198-6213, 2021.
- EICHELBAUM, S. et al. Challenges and considerations in the preparation of novel antibiotic phytochemicals. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 31, n. 12, p. 14–28, 2020.
- EL OMARI, K. et al. In-vitro evaluation of the antibacterial activity of the essential oils of *Micromeria barbata*, *Eucalyptus globulus* and *Juniperus excelsa* against strains of *Mycobacterium tuberculosis* (including MDR), *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium goodii*. **Journal of Infection and Public Health**, v. 12, n. 5, p. 615–618, 2019.
- ESTEBAN, J.; GARCÍA-COCA, M. *Mycobacterium* biofilms. **Frontiers in Microbiology**, v.8, [s.n.], p. 2651, 2018.
- FREITAS, W. A. et al. Plantas medicinais e pessoas com tuberculose: descrição de práticas decuidado no norte da Bahia, 2017. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 29, [s.n.], p.1-10, 2020.
- GAGNEUX, Sebastien. Ecology and evolution of *Mycobacterium tuberculosis*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 4, p. 202-213, 2018.
- GRIEBEL, A.; WATSON, D.; PENDALL, E. Mistletoe, friend and foe: synthesizing ecosystem implications of mistletoe infection. **Environmental Research Letters**, v. 12, n. 11, p. 115012, 2017.
- GUPTA, V. K. et al. Plants in our combating strategies against *Mycobacterium tuberculosis*: Progress made and obstacles met. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, n. 1, p. 1536–1544, 2017.
- HUANG, H. L. et al. Treatment of pulmonary disease caused by *Mycobacterium kansasii*. **Journal of the Formosan Medical Association**, v. 119, [s.n.], p. 51-57, 2020.
- IGNATOV, D. et al. *Mycobacterium avium*-triggered diseases: pathogenomics. **Cellular microbiology**, v. 14, n. 6, p. 808-818, 2012.
- INTERSIMONE, N. H.; THOENE, A. D.; RIERA, A. S. Efecto diurético de extractos acuosos y alcohólicos de flores de *Phrygilanthus acutifolius* (corpo) en ratas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, v. 10, n. 3–4, p. 1-7, 2005.
- JOHANSEN, M. D.; HERRMANN, J.L.; KREMER, L. Non-tuberculous mycobacteria and the rise of *Mycobacterium abscessus*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 7, p. 392-407, 2020.
- JOHNSTON, J. C.; CHIANG, L.; ELWOOD, K. *Mycobacterium kansasii*. **Tuberculosis and Nontuberculous Mycobacterial Infections**, n. 42 p. 725-734, 2017.
- KALSCHUEER, R. et al. The *Mycobacterium tuberculosis* capsule: a cell structure with key implications in pathogenesis. **Biochemical Journal**, v. 476, n. 14, p. 1995–2016, 2019.
- KOUSHA, A. et al. Does the BCG vaccine have different effects on strains of tuberculosis? **Clinical and Experimental Immunology**, v. 203, n. 2, p. 281–285, 2021.

- JETHVA, K. D. et al. Antimycobacterial screening of selected medicinal plants against *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv using agar dilution method and the microplate resazurin assay. **International Journal of Mycobacteriology**, v. 9, n. 2, p. 150, 2020.
- LEAL, V. L. et al. Anti-Candida activity of *Tripodanthus acutifolius* (Loranthaceae), mechanism of action and toxicity parameters. **Scientific Electronic Archives**, v. 14, n. 6, p37-48, 2021.
- LEAL, L.; BUJOKAS, W. M.; BIONDI, D. Análise da infestação de erva-de-passarinho na arborização de ruas de Curitiba, PR. **Floresta**, v. 36, n. 3, p.323-330, 2006.
- LEE, M. R. et al. *Mycobacterium abscessus* complex infections in humans. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 9, p. 1638–1646, 2015.
- LEITÃO, F. et al. Medicinal plants from open-air markets in the State of Rio de Janeiro, Brazil as a potential source of new antimycobacterial agents. **Journal of ethnopharmacology**, v. 149, n. 2, p. 513-521, 2013.
- LOPEMAN, R. C. et al. *Mycobacterium abscessus*: environmental bacterium turned clinical nightmare. **Microorganisms**, v. 7, n. 3, p.90, 2019.
- LORET, J. F.; DUMOUTIER, N. Non-tuberculous mycobacteria in drinking water systems: a review of prevalence data and control means. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 222, n. 4, p. 628–634, 2019.
- MANANDHAR, S.; LUITEL, S.; DAHAL, R. K. *In vitro* antimicrobial activity of some medicinal plants against human pathogenic bacteria. **Journal of Tropical Medicine**, v. 2019, [s.n.], p.1-5, 2019.
- MANGWANI, N.; SINGH, P. K.; KUMAR, V. Medicinal plants: adjunct treatment to tuberculosis chemotherapy to prevent hepatic damage. **Journal of Ayurveda and Integrative Medicine**, v. 11, n. 4, p. 522–528, 2020.
- MARTINI, M. C. et al. *Artemisia annua* and *Artemisia afra* extracts exhibit strong bactericidal activity against *Mycobacterium tuberculosis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 262, [s.n.] p. 113-191, 2020.
- MATTOS, G. et al. Medicinal plants and herbal medicines in primary health care: the perception of the professionals. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 23, n. 11, p. 3735–3744, 2018.
- MOUGARI, F. et al. Infections caused by *Mycobacterium abscessus*: epidemiology, diagnostic tools and treatment. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 14, n. 12, p. 1139–1154, 2016.
- NESSAR, R. et al. *Mycobacterium abscessus*: A new antibiotic nightmare. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, n. 4, p. 810–818, 2012.
- O' FALKINHAM, Joseph. *Mycobacterium avium* complex: Adherence as a way of life. **AIMS Microbiology**, v. 4, n. 3, p. 428–438, 2018.

ORGEUR, M.; BROSCHE, R. Evolution of virulence in the *Mycobacterium tuberculosis* complex. **Current Opinion in Microbiology**, v. 41, [s.n.], p. 68–75, 2018.

PALOMINO, J. C. et al. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 8, p. 2720–2722, 2002.

PEDROTTI, Gabriela; KEMCZINSKI, Avaniilde; PEREIRA, Kariston. Interdisciplinaridade: e suas relações com a intradisciplinaridade, multidisciplinaridade e transdisciplinaridade. **Caribeña de Ciencias Sociales**, v. 5, n.5, p 1-8, 2019.

PHILLIPSON, David. Phytochemistry and medicinal plants. **Phytochemistry**, v. 56, n. 3, p. 237-243, 2001.

PORVAZNIK, I.; SOLOVIČ, I.; MOKRÝ, J. Non-tuberculous mycobacteria: classification, diagnostics, and therapy. **Respiratory Treatment and Prevention**, v. 944, [s.n.], p. 19-25, 2016.

RABAHI, Marcelo Fouad et al. Tuberculosis treatment. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 43, p. 472-486, 2017

RAMIS, I. B. et al. Antimicrobial susceptibility of rapidly growing mycobacteria using the rapid colorimetric method. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 34, n. 7, p. 1403–1413, 2015.

REID, M. J. A. et al. Building a tuberculosis-free world: the lancet commission on tuberculosis. **The Lancet**, v. 393, n. 10178, p. 1331–1384, 2019.

RICCO, R. A. et al. Modificación en el perfil de polifenoles de *Tripodanthus acutifolius* (Ruiz et Pav.) Tiegh. (Loranthaceae) infectado por “Cochinilla” (Homoptera - Lecanidae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 2, p. 258–262, 2008.

RIGOUTS, L.; COGNEAU, S. The Genus *Mycobacterium*. **Practical Handbook of Microbiology**, [s.n.], p. 443–464, 2021.

ROSENDO, L. S. L.; BEZERRA, C. W. F.; LIMA, M. M. Aspectos epidemiológicos da *Mycobacterium tuberculosis*: uma revisão. *Meio Ambiente (Brasil)*, v. 2, n. 4, 2020.

ROTTA, Emílio. Autotrofia em *Tripodanthus acutifolius* (Ruiz & Pav.) Tiegh. (erva-de-passarinho): um registro. **Embrapa Florestas-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, [s.n.], p. 1-3, 2004.

ŠANTIĆ, Ž. et al. The historical use of medicinal plants in traditional and scientific medicine. **Psychiatria Danubina**, v. 29, n. 1, p. 787–792, 2017.

SANTOS, J. V. O.; PORTO, A. L. F.; CAVALCANTI, I. M. F. Potential application of combined therapy with lectins as a therapeutic strategy for the treatment of bacterial infections. **Antibiotics**, v. 10, n. 5, p. 520, 2021.

SCHITO, M. et al. Perspectives on advances in tuberculosis diagnostics, drugs, and vaccines. **Clinical Infectious Diseases**, v. 61, n. 3, p. 102-118, 2015.

SCHOELER, G. M. et al. Sintomatologia e achados de imagem da tuberculose: revisão bibliográfica. **Revista Interdisciplinar Pensamento Científico**, v. 5, n. 4, p. 1817-1830, 2019.

SHARIFI-RAD, J. et al. Medicinal plants used in the treatment of tuberculosis - ethnobotanical and ethnopharmacological approaches. **Biotechnology Advances**, v. 44, n. 7, p. 1, 2020.

SHIN, J.; SHIN, S. J.; SHIN, M.K. Differential genotyping of *Mycobacterium avium* complex and its implications in clinical and environmental epidemiology. **Microorganisms**, v. 8, n. 1, p. 98, 2020.

SIA, J. K.; RENGARAJAN, J. Immunology of *Mycobacterium tuberculosis* infections. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 4, p. 1-56, 2019.

SILVA, D. R. et al. Consenso sobre o diagnóstico da tuberculose da sociedade brasileira de pneumologia e tisiologia. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 47, n. 2, p. 1–13, 2021.

SILVA Chana Medeiros. Estudo químico e biológico de *Tripodanthus acutifolius* (Ruiz & Pav.) Tiegh., Loranaceae. 2014. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2016

SINGH, R. et al. Recent updates on drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 128, n. 6, p. 1547-1567, 2020.

SOARES, Luciano Rodrigues. *Tripodanthus acutifolius* von Thiege, fotografia, Piratini - RS, 2011. Disponível em
<http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=5142>.
Acesso em 27 jun 2021.

SOBERÓN, J. R. et al. *Tripodanthus acutifolius* and *Psittacanthus cuneifolius*: Loranaceae. Sources of natural antimicrobials. **Idecefy**, v. 11, n. 12, p. 24–25, 2006.

SOBERÓN, J. R. et al. Antibacterial activity of plant extracts from northwestern Argentina. **Journal of Applied Microbiology**, v. 102, n. 6, p. 1450–1461, 2007.

SOBERÓN, J. R. et al. Purification and identification of antibacterial phenolics from *Tripodanthus acutifolius* leaves. **Journal of Applied Microbiology**, v. 108, n. 5, p. 1757–1768, 2010.

SOUZA, M. Z.; LEAL, G. C. L.; HUZITA, E. H. M. Um exemplo de estudo experimental conduzido sob a perspectiva de um processo. **Revista Tecnológica**, v. 21, n. 1, p. 43-52, 2012.

SOUZA, T. et al. Atividade antibacteriana do extrato aquoso de *Tripodanthus acutifolius* frente a *Staphylococcus aureus*. **Revista Jovens Pesquisadores**, v. 4, n. 1, 2014.

SRIVASTAVA, S.; GUMBO, T. Clofazimine for the treatment of *Mycobacterium kansasii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, n. 8, p. 8-18, 2018.

SZURPNICKA, A.; KOWALCZUK, A.; SZTERK, A. Biological activity of mistletoe: in vitro and in vivo studies and mechanisms of action. **Archives of Pharmacal Research**, n.43, p.593–629, 2020.

TAKÓ, M. et al. Plant phenolics and phenolic-enriched extracts as antimicrobial agents against food-contaminating microorganisms. **Antioxidants**, v. 9, n. 2, p. 165, 2020.

TAVARES JUNIOR, João Batista. Avaliação da potencialidade de sensores remotos na detecção da Loranthaceae (Erva-de-Passarinho). **Boletim de Ciências Geodésicas**, v. 15, n. 4, p. 677-678, 2009.

TO, K. et al. General overview of nontuberculous *Mycobacteria* opportunistic pathogens: *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium abscessus*. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 8, p. 2541, 2020.

TOSUN, F. et al. Antimycobacterial activity of some Turkish plants. **Pharmaceutical Biology**, v. 42, n. 1, p. 39–43, 2004.

UPLEKAR, M. et al. WHO's new end TB strategy. **The Lancet**, v. 385, n. 9979, p. 1799–1801, 2015.

VIKRAM, Karthick. Major Parasitic Weeds—An Overview. **Biotica Research Today**, v. 3, n. 4, p. 236-239, 2021.

WEI, M. et al. Pneumonia caused by *Mycobacterium tuberculosis*. **Microbes and Infection**, v. 22, n. 6–7, p. 278–284, 2020.

WHO, World Health Organization. **Global tuberculosis report 2020**. WHO report [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>>. Acesso em: 24 jun. 2021.

ANEXOS

**ANEXO A - EXSICATA DE *TRIPODANTHUS ACUTIFOLIUS* VON THIEG
DEPOSITADA NO INSTITUTO DE CIÊNCIAS NATURAIS (ICN) DA UFRGS.**



ANEXO B – CARTA DE ACEITE DE INSTITUIÇÃO PARCEIRA FURG

DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins conhecer o projeto de pesquisa intitulado: **“ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Tripodanthus acutifolius* von Thieg EM CEPAS DE *Mycobacterium* spp.”**, desenvolvido pelo mestrando Tiago Antônio Heringer, do programa de pós-graduação em Promoção da Saúde, da Universidade de Santa Cruz do Sul – (UNISC), sob a orientação da professora Dra. Lia Gonçalves Possuelo, bem como os objetivos e a metodologia da pesquisa e autorizamos o desenvolvimento nos laboratórios do Laboratório de Micobacteriologia da Faculdade de Medicina/Universidade Federal de Rio Grande (FAMED/FURG).

Por se tratar de um estudo in vitro não será necessário apresentar o parecer ético que seria emitido pelo CEP-UNISC. Esta instituição está ciente das suas corresponsabilidades como instituição coparticipante do presente projeto de pesquisa e no seu compromisso do resguardo da segurança e bem-estar dos sujeitos de pesquisa nela recrutados, dispondo de infraestrutura necessária para tanto.



Pedro E. Almeida da Silva

Faculdade de Medicina

FURG

26 de agosto de 2021

ANEXO C. CARTA ACEITE DE INSTITUIÇÃO PARCEIRA UNISC

DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins conhecer o projeto de pesquisa intitulado: **“ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Tripodanthus acutifolius* von Thieg EM CEPAS DE *Mycobacterium spp.*”**, desenvolvido pelo mestrando Tiago Antônio Heringer, do programa de pós-graduação em Promoção da Saúde, da Universidade de Santa Cruz do Sul – (UNISC), sob a orientação da professora Dra. Lia Gonçalves Possuelo, bem como os objetivos e a metodologia da pesquisa e autorizamos o desenvolvimento nos laboratórios do Parque Científico e Tecnológico Regional da UNISC – Tecnounisc.

Por se tratar de um estudo in vitro não será necessário apresentar o parecer ético que seria emitido pelo CEP-UNISC. Esta instituição está ciente das suas corresponsabilidades como instituição coparticipante do presente projeto de pesquisa e no seu compromisso do resguardo da segurança e bem-estar dos sujeitos de pesquisa nela recrutados, dispondo de infraestrutura necessária para tanto.



Rafael Kirst

Gestor do TecnoUnisc

ANEXO D. CADASTRO SISGEN**Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso**Cadastro nº A84F3E5**

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético/CTA, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A84F3E5**
Usuário: **APESC**
CPF/CNPJ: **95.438.412/0001-14**
Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético/CTA**
Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Tripodanthus acutifolius
Mycobacterium tuberculosis
Mycobacterium tuberculosis
Mycobacterium kansasii
Mycobacterium abscessus
Mycobacterium avium
Mycobacterium avium
AAFC1F0

Fonte do CTA

CTA de origem não identificável

Título da Atividade: **ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE Tripodanthus acutifolius von Thieg EM CEPAS DE Mycobacterium spp.**

Equipe**LIA GONÇALVES POSSUELO****APESC****Tiago Antonio Heringer****APESC****Parceiras Nacionais****94.877.586/0001-10 / Famed/ FURG**

Data do Cadastro:

19/09/2021 14:18:24

Situação do Cadastro:

Concluído

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **14:18** de **19/09/2021**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
ASSOCIADO - **SISGEN**

ANEXO F. NORMAS DA REVISTA BRAZILIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES

PREPARING YOUR MANUSCRIPT

Cover Letter

It is important that you include a cover letter with your manuscript. Take the time to consider why this manuscript is suitable for publication in the Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. Why will your paper inspire other members of your field, and how will it drive research forward. Please explain these points in your cover letter.

The cover letter should also contain the following information:

- a. Title of article.
- b. Name(s), affiliation and ORCID number of all author(s).
- c. Information of Corresponding Author (name, full address, telephone number, and e-mail).

Authorship requirements

Only people who directly contributed to the intellectual content of the paper should be listed as authors. Manuscripts must be submitted electronically only. Confirmation of submission will be sent by email to all authors, for their agreement.

Authors should meet all of the following criteria, thereby taking public responsibility for the content of the paper:

- a. Conceived, planned, and carried out the experiments presented in the manuscript or interpreted the data, or both.
- b. Wrote the paper, or reviewed successive versions.
- c. Approved the final version.
- d. Holding positions of administrative leadership, contributing to patients, and collecting and assembling data, however important to the research, are not by themselves criteria for authorship.

Any person who has made a substantial, direct contribution to the work but cannot be considered an author should be cited in the Acknowledgment section, with permission and include a description of his/her specific contribution to the research.

Text format

- a. The text of a manuscript can only be accepted as a Microsoft Word file created with MS Word as a “doc”, “docx” or “RTF” document.

- b. Manuscripts should be sent in 30-36 lines, 1,5 spaced,
- c. Each page should contain the page number in the upper right-hand corner starting with the title page as page 1.
- d. Report all measurements in Système International, SI (<http://physics.nist.gov/cuu/Units>) and standard units where applicable
- e. Names of plants, animals and chemicals should be mentioned according to International Rules available.
- f. Names of drugs can follow the International rules (DCI) or current Brazilian rules (DCB)
- g. Trademarks may be mentioned only once in the text (between parenthesis and initial in capital letter)
- h. Do not use abbreviations in the title and limit their use in the abstract and text.
- i. The length of the manuscript and the number of tables and figures must be kept to a minimum.
- j. Ensure that all references are cited in the text.
- k. Generic names must be used for all drugs. Instruments may be referred to by proprietary name; the name and country of the manufacturer should be given in parenthesis.

ORGANIZATION OF THE MANUSCRIPT

Most articles published in BJPS will be organized into the following sections:

Title

Running Title

Authors (full names)

Corresponding author information (Abbreviated name, institutional address, phone, e-mail,

ORCID

link)

Abstract, Keywords

INTRODUCTION

MATERIAL AND METHODS

First Subtitle (if there is any)

Second subtitle (if there is any)

RESULTS

DISCUSSION

ACKNOWLEDGMENTS

REFERENCES

Tables with a descriptive title and footnote legends

Figures with a descriptive legend and uniformity in format.

Continuous page numbers are required for all pages including figures. There are no specific length restrictions for the overall manuscript or individual sections. However, we request authors to present and discuss their findings concisely. We recognize that some articles will not be best presented in our research article format. If you have a manuscript that would benefit from a different format, please contact the editors for further discussion.

TITLE PAGE

Title

The title should be as short and informative as possible, should not contain non-standard acronyms or abbreviations, and should not exceed two printed lines. The title should be centered and written in bold as the example below:

**FREEZE-DRYING OF AMPICILLIN SOLID LIPID NANOPARTICLES USING
MANNITOL
AS CRYOPROTECTANT**

Running title

This short title, to be used as a page heading, should not exceed 60 letters and spaces.

Authors and Affiliations

Full name (matched with superscript numbers identifying affiliation) must be written in bold and centered. Institution(s) (Department, Faculty, University, City, State, Country) of each author (in English must be centered and written in italic. Example:

Hongmei Xia^{1*}, Yongfeng Cheng²

, Yinxiang Xu³

, Zhiqing Cheng¹

College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, People's Republic of China,

School of Life Science, University of Science and Technology of China, Hefei, People's Republic of China, Zhaoke (Hefei) Pharmaceutical Co. Ltd., Hefei, People's Republic of China

Corresponding author

One of the authors should be designated as the corresponding author. It is the corresponding author's responsibility to ensure that the author list is accurate and complete. If the article has been submitted on behalf of a consortium, all consortium members and affiliations should be listed in the Acknowledgments section. Provide the name, address, phone, email address, and ORCID number of the author to whom correspondence should be sent identified with an asterisk.

Abstract

Since abstracts are published separately by Information Services, they should contain sufficient hard data to be appreciated by the reader. The abstract should not exceed 200 words and should be prepared in a single paragraph without topics and no margins. The abstract should briefly and clearly present the objective, experimental approach, new results as quantitative data if possible, and conclusions. It should mention the techniques used without going into methodological detail and mention the most important results. Abbreviations should be kept to a minimum and should be defined in both the Abstract and text.

Please do not include any reference citations in the abstract. If the use of a reference is unavoidable, the full citation should be given within the abstract.

Keywords:

A list of keywords or indexing terms (no more than 6) should be included avoiding generic terms. Keywords must be separated by dots with only the first letter of the first word in upper case.

Example:

Apoptosis pharmacokinetics. Toxicology.

INTRODUCTION

The Introduction should put the focus of the manuscript into a broader context and reflects the present state-of-art of the subject. This should state briefly and clearly the objectives of the investigation with reference to previous works. The introduction should justify the hypothesis of the study. An extensive review of the literature should be avoided and when possible replaced by recent reviews of the subject.

MATERIAL AND METHODS

These should be described in sufficient detail that the work can be reproduced. Well-established procedures and techniques require only a citation of the original source, except when they are substantially modified. Reports of experimental studies on humans and animals must certify (including the number of protocols) that the research received prior approval by the appropriate institutional review Ethics Committee.

RESULTS

Results must be presented clearly and concisely and in a logical order. This section should provide the results of all of the experiments required to support the conclusions of the paper. When possible, use figures or tables to present data rather than text. Large datasets, including raw data, should be submitted as supplementary files; these are published online and linked to the article.

DISCUSSION

Discussion should interpret the results and assess their significance in relation to existing knowledge. Speculation not warranted by actual data should be avoided. The Discussion should spell out the major conclusions and interpretations of the work including some explanation of the significance of these conclusions.

ACKNOWLEDGMENTS

When appropriate, briefly acknowledge technical assistance, advice, and contributions from colleagues. People who contributed to the work but do not fit the criteria for authors should be listed in the Acknowledgments section, along with their contributions. Donations of animals, cells, or reagents should also be acknowledged. You must also ensure that anyone named in the Acknowledgments agrees to being so named. Financial support for the research and fellowships should be acknowledged in this section (agency and grant number).

Figures

Figures must be submitted in high-resolution version (300 dpi). They must be submitted separately from the text, in the file upload section of the submission platform. Preparing figure files for submission The use of figures is mandatory for original articles since it increases the clarity of data. The use of color figures in articles is free of charge. The following guidelines must be observed when preparing figures. Failure to do so is likely to delay the acceptance and publication of the article.

- a. Each figure of a manuscript should be submitted as a single file.
- b. Figures should be numbered in the order they are first mentioned in the text, and uploaded in this order.
- c. Figure titles and legends should be provided in the main manuscript as a List of Figures, not in the graphic file.
- d. The aim of the figure legend should be to describe the key messages of the figure, but the figure should also be discussed in the text.
- e. An enlarged version of the figure and its full legend will often be viewed in a separate window online, and it should be possible for a reader to understand the figure without moving back and forth between this window and the relevant parts of the text.
- f. The legend itself should be succinct, while still explaining all symbols and abbreviations. Avoid lengthy descriptions of methods. Statistical information should be given as well as the statistical tests used.
- g. Arrows or letters should be used in the figure and explained in the legend to identify important structures.
- h. Figures with multiple panels should use capital letters A, B, C, etc. to identify the panels.

- i. Each figure should be closely cropped to minimize the amount of white space surrounding the illustration. Cropping figures improves accuracy when placing the figure in combination with other elements when the accepted manuscript is prepared for publication.
- j. Individual figure files should not exceed 5 MB. If a suitable format is chosen, this file size is adequate for extremely high-quality figures. Please note that it is the responsibility of the author(s) to obtain permission from the copyright holder to reproduce figures (or tables) that have previously been published elsewhere. In order for all figures to be open-access, authors must have permission from the rights-holder if they wish to include images that have been published elsewhere in non-open-access journals. Permission should be indicated in the figure legend, and the original source included in the reference list.

Supported file type

The following file format can be accepted: TIFF (suitable for images) or JPEG with 300 dpi, and Word file for the manuscript.

Tables

- a. Tables must be submitted in Word (.doc) or Excel (.xls), not as an image.
- b. Tables must be numbered consecutively with Roman numerals in the text.
- c. Tables must have a concise and descriptive title.
- d. All explanatory information should be given in a footnote below the table. Footnotes should be used to explain abbreviations and provide statistical information, including statistical tests used.
- e. All abbreviations must be defined in this footnote, even if they are explained in the text.
- f. Tables must be understandable without referring to the text.
- g. Tables occupying more than one printed page should be avoided, if possible.
- h. Vertical and diagonal lines should not be used in tables; instead, indentation and vertical or horizontal space should be used to group data.

Citations

References should be prepared and listed according to Vancouver's standard reference style. Entries should be arranged in alphabetical order by the author at the end of the paper. All authors' names should be given. The accuracy and completeness of reference data is the responsibility of the authors.

Only published references should be included in the reference list. Meeting abstracts, conference talks, or papers that have been submitted but not yet accepted should not be cited. Limited citation of unpublished work should be included in the body of the text only. All personal communications should be supported by a letter from the relevant authors.

References should be cited in the text by the authors' names, with only the first letter in capital letter followed by the year of publication. For more than three authors, the first has to be cited followed by the expression *et al.* (in italic). Small letters close to the year must differentiate references of the same authors and year of publication.

Examples:

(Zhang, 2017) (Ima, Souza, 2015) (Fujisawa, Atsumi, Kadoma, 1989) (Aviral *et al.*, 2009)
(Liu *et al.*, 2011a) (Liu *et al.*, 2011b)

References

Published Papers: Write all author's names up to 6 authors and followed by *et al.* (in case there are more than 6), Title (Only the first letter in upper case). Journal abbreviation without dots. Year;Volume(issue number):first page-last page.

Abe T, Fukushima N, Brune K, Boehm C, Sato N, Matsubayashi H, *et al.* Genome-Wide allelotypes of familial pancreatic adenocarcinomas and familial and sporadic intraductal papillary mucinous neoplasms. *Clin Cancer Res.* 2007;13(20):6019-25.

HOW TO SUBMIT THE MANUSCRIPT

Submission should be sent electronically through the ScholarOne system

(<https://mc04.manuscriptcentral.com/bjps-scielo>).

ANEXO G. SUBMISSÃO ARTIGO I

Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences

[Home](#)[Author](#)

Submission Confirmation

[Print](#)

Thank you for your submission

Submitted to

Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences

Manuscript ID

BJPS-2023-0104

Title

Potential of plant extracts against Mycobacterium tuberculosis: an integrative review

Authors

Heringer, Tiago
Boeira, Eduarda
Ramos, Daniela
Renner, Jane
da Silva, Chana
Possuelo, Lia

Date Submitted

14-Feb-2023