



FMUC FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

HELENA CRISTINA CONCEIÇÃO MELANDA

Biofilmes e plantas medicinais: evidência científica

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE PLANTAS MEDICINAIS NA PRÁTICA CLÍNICA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROF. DOUTOR CELSO PEREIRA

DR^a GRAÇA LOUREIRO

ABRIL/2019

ARTIGO DE REVISÃO

Biofilmes e plantas medicinais: evidência científica

Helena Cristina Conceição Melanda*

Trabalho realizado sob a orientação de:

Celso Pereira^{1,2}

Graça Loureiro²

¹ Unidade Curricular de Plantas Medicinais na Prática Clínica
Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

² Serviço de Imunoalergologia
Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Portugal

* Endereço de correio eletrónico: helena.melanda@gmail.com

ÍNDICE

Resumo	5
Abstract	6
1. Introdução	7
2. Materiais e métodos	10
3. Biofilmes.....	11
3.1. Patofisiologia dos biofilmes e mecanismos de virulência	12
3.2. Resistência antimicrobiana e dificuldades na terapêutica.....	13
3.3. Biofilmes associados a infecções.....	15
4. Plantas medicinais	19
4.1. Vantagens e desvantagens do uso de plantas medicinais	21
4.2. Fitofármacos com ação antimicrobiana.....	22
4.3. Exemplos de plantas medicinais com atividade antimicrobiana	25
4.3.1. <i>Allium sativum</i>	25
4.3.2. <i>Berberis vulgaris</i>	32
4.3.3. <i>Betula spp.</i>	37
4.3.4. <i>Geranium spp.</i>	41
4.3.5. <i>Punica granatum</i>	45
4.3.6. <i>Syzygium aromaticum</i>	51
4.3.7. <i>Urtica dioica</i>	57
5. Conclusão	63
6. Agradecimentos.....	65
7. Referências bibliográficas	66

Título: Biofilmes e plantas medicinais: evidência científica

Resumo

Os biofilmes dizem respeito a comunidades de microrganismos aderentes a uma superfície abiótica ou biótica e organizados entre si através da sua matriz extracelular, que permite o seu crescimento e desenvolvimento, aumentando a sua resistência e dificultando a erradicação no hospedeiro.

É do conhecimento atual a crescente resistência a fármacos antimicrobianos que se tem verificado, nomeadamente no tratamento de infeções resultantes da presença de biofilmes, o que gera uma grande limitação no controlo de múltiplas doenças. Desta forma, o estudo de plantas medicinais tem sido alvo de grande interesse, uma vez que muitas delas possuem propriedades antimicrobianas comprovadas, além de outras características farmacológicas, que podem constituir uma estratégia para o controlo de microrganismos e infeções persistentes.

Assim, esta revisão foca o papel de algumas plantas medicinais, nomeadamente *Allium sativum*, *Berberis vulgaris*, *Betula spp.*, *Geranium spp.*, *Punica granatum*, *Syzygium aromaticum* e *Urtica dioica*, e a sua atuação e interação com os biofilmes microbianos de espécies como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*, presentes nas mucosas oral, cutânea e dos tratos respiratório e urogenital.

As plantas em análise evidenciaram ação antimicrobiana e atividade contra biofilmes constituídos pelos diversos microrganismos, promovendo a sua eliminação e a inibição do seu crescimento em diferentes estadios de desenvolvimento. Estas demonstraram também efeitos sinérgicos com fármacos convencionais e interferiram ainda com a produção de fatores de virulência, com mecanismos de *quorum sensing* e com a expressão genética, sendo a sua atividade dependente do tipo de extrato e das concentrações utilizadas.

No seguimento destes resultados, propõe-se a realização de ensaios clínicos prospetivos, randomizados e controlados, com vista à obtenção de resultados mais rigorosos no que concerne ao potencial terapêutico das plantas medicinais.

Palavras-Chave: biofilmes, plantas medicinais, efeito antimicrobiano, infeção recorrente

Title: Biofilms and medicinal plants: scientific evidence

Abstract

Biofilms are communities of microorganisms attached to biotic or abiotic surfaces and embedded within an extracellular polymeric substance matrix, which allows their growth and development. It also prevents the access of antibiotics to biofilm-grown cells, complicating their eradication from the host.

It has been observed an increasing resistance to antimicrobial agents regarding the treatment of biofilm infections, which generates a major limitation on controlling multiple diseases. In this way, the study of medicinal plants has been of great interest, as many of them possess well established antimicrobial properties, amongst other pharmacological benefits, which may compose effective strategies for the control of microorganisms and persistent infections.

Thus, this review focuses on the role of some medicinal plants, namely *Allium sativum*, *Berberis vulgaris*, *Betula spp.*, *Geranium spp.*, *Punica granatum*, *Syzygium aromaticum* and *Urtica dioica*, and its interaction with microbial biofilms, including *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*, present in oral, cutaneous, respiratory and urogenital mucosa.

The plants in analysis have evidenced antimicrobial activities against biofilms of multiple microorganisms, promoting its elimination and the inhibition of its growth in different stages of development. They also demonstrated potent synergism with antimicrobial drugs and interfered with the production of virulence factors, quorum sensing mechanisms and the expression of genes in biofilms, being their activity dependent on the type of extract and the concentrations employed.

Following these results, it is suggested to carry out prospective, randomized controlled clinical trials in order to obtain more exhaustive evidence regarding the therapeutic potential of medicinal plants.

Keywords: biofilms, medicinal plants, herbal medicine, antimicrobial effect, infection

1. INTRODUÇÃO

Durante muito tempo, a microbiologia assentou no estudo de células livres e suspensas em meio líquido. No entanto, a evolução da tecnologia que permite investigar estes seres vivos, determinou, a partir da década de setenta, que outras formas de existência além desta, designada de planctónica, refletiam de um modo mais preciso o crescimento dos microrganismos na natureza. Assim, compreendeu-se que formas celulares sésseis, isto é, aderidas entre si, constituem a biomassa predominante em múltiplos ambientes.¹⁻⁴

Em consequência, o conceito de biofilme emergiu progressivamente desde a sua primeira descrição, levada a cabo por Anton van Leeuwenhoek, cientista holandês reconhecido como “o Pai da Microbiologia”. Na segunda metade do século XVII, utilizou microscópios simples fabricados pelo próprio para observar agregados celulares que destacou da superfície dos seus dentes, os quais designou de “animálculos” (do latim *animalculum*), isto é, animais microscópios. No entanto, só mais tarde com os avanços na ciência e o desenvolvimento das técnicas de microscopia, se começou a aprofundar a investigação destas coleções microbianas e se determinou a sua complexa estrutura e organização, tendo-se também quantificado a sua presença no meio ambiente.³⁻⁵

Atualmente, estas microcolónias são descritas como biofilmes e definem-se como uma comunidade organizada, constituída por uma ou mais espécies de microrganismos, que podem incluir bactérias, fungos e protozoários, aderentes entre si e a uma superfície abiótica ou biótica, estando envolvidos por uma extensa matriz extracelular polimérica, constituída por proteínas, ácidos nucleicos, polissacarídeos e minerais, que os protege de fatores ambientais desfavoráveis, constituindo uma barreira física contra os agentes antimicrobianos.³⁻⁶

Todo o processo de formação de um biofilme é complexo e envolve reprogramação genética, em resposta às variações no ambiente que o rodeia. Esta plasticidade fenotípica confere múltiplas vantagens que se prendem com a indução da expressão de genes específicos moduladores da resistência destes conjuntos de microrganismos a agentes adversos.⁶

Paralelamente, também as doenças infecciosas têm sido alvo de grande investigação e preocupação, sabendo-se, nos dias de hoje, que constituem uma das principais causas de morte nos países mais desenvolvidos e mundialmente representam a segunda causa, seguindo-se às doenças cardiovasculares.⁷

A relevância clínica destas patologias prende-se com a sua associação ao desenvolvimento de biofilmes constituídos na sua maioria por bactérias patogénicas oportunistas, que estão na origem de muitas infeções, sendo responsáveis pelo seu curso crónico e difícil de tratar. Delas são exemplo a periodontite, otite média crónica, amigdalite, rinosinusite crónica, pneumonia

da fibrose quística ou pneumonia hospitalar, infecções do trato urinário (ITUs) e dermatites infecciosas subsequentes a lesões cutâneas.⁶

Sabe-se que bactérias incorporadas em biofilmes apresentam um crescimento lento e são menos suscetíveis ao tratamento com agentes antimicrobianos, comparativamente às células planctónicas.^{1,3} Assim, a crescente resistência evidenciada contra os fármacos em utilização é considerada o principal obstáculo no combate às doenças infecciosas e ao controlo da patogenicidade microbiana,⁸ condicionando múltiplas desvantagens relacionadas com a dificuldade em efetuar uma terapêutica eficaz, prolongando os internamentos hospitalares e assim, produzindo maiores encargos económicos, além de propiciar a recorrência de infeções e o aumento da morbidade e mortalidade.⁹

Desta forma, a redução da eficácia dos antimicrobianos, acompanhada da manifestação dos seus efeitos adversos, cada vez mais reclamados pelos doentes, e da emergência de microrganismos multirresistentes, tem suscitado a procura e análise intensiva de novos alvos terapêuticos mais eficazes na inibição da formação e do crescimento de biofilmes, visando ainda a menor toxicidade possível. Consequentemente, têm sido revisitados alguns agentes naturais presentes em plantas, desenvolvendo-se linhas de investigação nas ciências médicas, farmacológicas e nas ciências básicas com vista a avaliar cientificamente o seu potencial terapêutico e antimicrobiano contra estirpes multirresistentes.¹⁰

O interesse nos benefícios das plantas medicinais para a saúde remonta desde os tempos ancestrais, em que a sua utilidade variava desde simples infusões para aliviar a dispepsia até aplicações tópicas para tratar pequenas lacerações. No entanto, com a evolução da ciência, o foco dirigiu-se para os fármacos sintéticos e outras substâncias químicas, que são atualmente prescritas em grande quantidade, o que em parte tem contribuído para a resistência bacteriana.^{11,12} Assim, nos últimos trinta anos, os investigadores têm-se recentrado novamente em agentes naturais, estudando sobretudo as propriedades antimicrobianas das plantas e dos seus extratos.¹³

De facto, estima-se que mais de um terço das terapêuticas em utilização no nosso quotidiano sejam derivadas de plantas medicinais ou consistam em medicamentos sintetizados com origem botânica.¹⁴

Efetivamente, grande parte da população recorre ainda à medicina tradicional para prevenir, aliviar ou tratar doenças comuns. Esta crença dirigida às propriedades farmacológicas destes agentes e dos seus metabolitos está também muito apoiada no facto de muitas plantas serem descritas com potencial antioxidante, anti-inflamatório e antimicrobiano, além do seu efeito terapêutico em múltiplas doenças, nomeadamente infeções cutâneas e dos tratos urinário, gastrointestinal e respiratório.¹²

Outras vantagens incluem os ínfimos efeitos adversos associados às plantas medicinais, comparativamente aos fármacos criados artificialmente, o que promove uma maior aceitação por parte dos utilizadores. Além disso, são geralmente menos dispendiosas, constituindo uma opção válida até para as classes socioeconómicas mais desfavoráveis.¹²

Assim se compreende que em países subdesenvolvidos e com disponibilidade reduzida de cuidados de saúde esta prática seja preponderante, uma vez que as plantas medicinais constituem, por vezes, os únicos agentes terapêuticos acessíveis a algumas populações mais desfavorecidas.

No entanto, apesar do uso frequente de extratos (de rizomas, caules, folhas, flores, etc.) e óleos essenciais de inúmeras plantas, os seus mecanismos de atuação nem sempre foram esclarecidos, daí que haja um interesse crescente com vista a determinar com a melhor credibilidade científica quais as propriedades que estas comportam e de que forma podem constituir uma opção terapêutica válida e com benefícios comparáveis aos agentes que atualmente se encontram à nossa disposição no mercado farmacêutico.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), as plantas medicinais seriam uma das melhores fontes de exploração com vista à obtenção de novos alvos terapêuticos e de uma grande variedade de fármacos.¹⁰

Assim, esta revisão tem como objetivo principal reunir a evidência científica que sustenta o papel de algumas plantas medicinais, concretamente *Allium sativum*, *Berberis vulgaris*, *Betula spp.*, *Geranium spp.*, *Punica granatum*, *Syzygium aromaticum* e *Urtica dioica*, entre outras, e a sua interação e atuação na remoção ou minimização de biofilmes microbianos. Selecionaram-se estas plantas uma vez que apresentam estudos mais sustentados, embora existam publicações de muitas outras espécies que variam de acordo com a área geográfica do globo, dependendo da flora envolvente de cada comunidade.

Outros objetivos são perceber que princípios ativos são responsáveis pela ação antimicrobiana das plantas medicinais e quais os principais microrganismos envolvidos na patogénese de infeções recorrentes com formação de biofilmes. Para o efeito, consideram-se como relevantes aqueles presentes nas mucosas oral, cutânea e dos tratos respiratório e urogenital, maioritariamente na dependência de agentes biológicos como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*.

Considera-se que em algumas situações clínicas poderá existir uma janela de oportunidade terapêutica que cientificamente sustenta a utilização de plantas medicinais em doentes com infeções persistentes e resistentes aos antimicrobianos convencionais.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho teve como objetivo a realização de uma revisão bibliográfica com vista à exposição de propriedades de algumas plantas medicinais e a sua atuação e interação com os biofilmes microbianos envolvidos na patogênese de infeções recorrentes.

No que diz respeito à metodologia, este artigo teve por base a análise de dados disponíveis na PubMed e Embase, tendo sido selecionadas publicações científicas de âmbito médico, farmacêutico, da bioquímica e infeciologia, entre outras, excluindo-se publicações nas áreas da fitoterapia, etnomedicina, medicinas alternativas ou outras não suportadas na comunidade médica, mesmo que constituam ensaios, projetos de investigação ou casos clínicos com autoria em centros médicos, farmacêuticos ou bioquímicos. A escolha dos artigos fundamentou-se na leitura dos *Abstract* para avaliar se as publicações teriam relevância para o tema em desenvolvimento.

As palavras-chave utilizadas na pesquisa foram *biofilm*, *medicinal plants*, *herbal*, *antimicrobial* e *infection*, em combinação com outros termos que, indo de encontro aos objetivos do trabalho, incluíram as principais plantas em análise – *Allium sativum*, *Berberis vulgaris*, *Betula spp.*, *Geranium spp.*, *Punica granatum*, *Syzygium aromaticum* e *Urtica dioica* –, bem como alguns dos microrganismos mais comumente associados a infeções com origem em biofilmes: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*.

Após a pesquisa, os critérios tidos em conta para a seleção dos artigos prenderam-se com o seu interesse, que deveria ir de encontro aos objetivos estabelecidos, bem como a frequência da sua referência na literatura, tendo-se escolhido sobretudo artigos com evidência experimental acerca desta matéria, preferencialmente com data de publicação até dez anos de recuo relativamente ao término do trabalho.

Efetou-se também a pesquisa de algumas referências bibliográficas citadas nos artigos selecionados com relevância para a compreensão do tema em questão, bem como a pesquisa *online* nos endereços da Agência Europeia do Medicamento (EMA) e Medscape.

Foram ainda utilizados Manuais de Plantas Medicinais como instrumento de consulta, por terem integrado a bibliografia aconselhada da cadeira de Plantas Medicinais na Prática Clínica, lecionada na Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

3. BIOFILMES

As bactérias constituem formas de vida amplamente estudadas pelas suas capacidades de se desenvolverem em múltiplos ambientes. Com a evolução dos métodos de observação destes agentes vivos, apurou-se o seu crescimento e reprodução predominantemente na forma de comunidades aderentes a superfícies bióticas ou abióticas e inseridas numa matriz com funções nutritivas constituída por exopolissacarídeos, sendo estas designadas de biofilmes.^{1,15,16}

O desenvolvimento de técnicas de investigação microscópicas e moleculares permitiu compreender que os biofilmes representam sistemas biológicos altamente organizados, compostos por uma estrutura heterogénea, com distribuição variável de agregados celulares e dos seus polímeros extracelulares (Figura 1). Neles podem estar presentes múltiplas espécies bacterianas, assim como fungos, vírus e parasitas, que exibem fenótipos distintos das suas formas planctónicas correspondentes, apoiados numa estreita regulação da transcrição genética e numa estrutura proteica que ditam a sua complexidade, capacitando-os na adaptação a diferentes estímulos e a alterações no ambiente que os envolve.^{1,15,16}

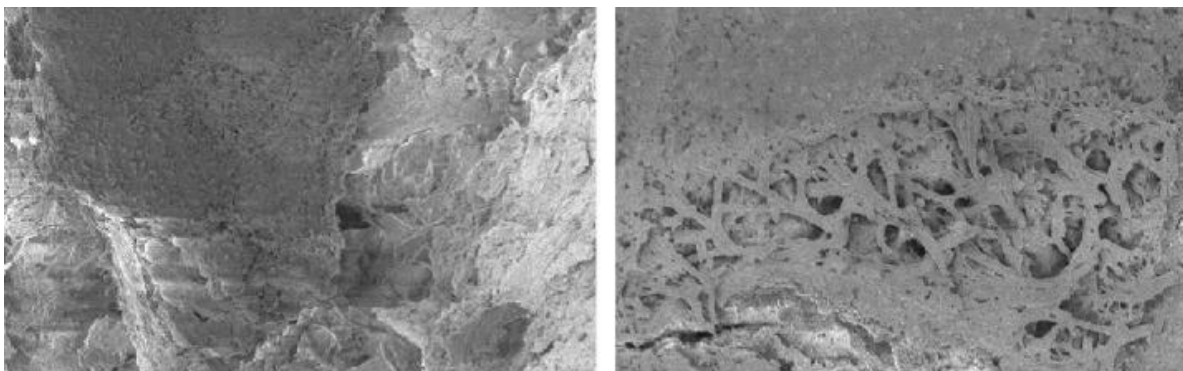


Figura 1 – Estrutura de um biofilme de *Staphylococcus aureus* (Adaptado de Yadav et al., 2015)

A plasticidade fenotípica característica dos biofilmes relaciona-se com o tamanho das células, com a sua motilidade e metabolismo, entre outras características, conferindo-lhes proteção adicional e maior resistência a predadores ou agentes antibacterianos, comparativamente às células em suspensão isoladas em cultura.¹⁵

3.1. PATOFISIOLOGIA DOS BIOFILMES E MECANISMOS DE VIRULÊNCIA

A formação de biofilmes assenta em diversas etapas, esquematizadas na Figura 2. Estas incluem:^{1,2,4,17}

1. Transporte e adesão inicial de células livres a uma superfície sólida, quando estas intuem alterações no ambiente que as rodeia, condicionadas pela adsorção de nutrientes orgânicos e inorgânicos, pelo pH, osmolaridade, oxigénio e temperatura, influenciando a fixação bacteriana subsequente.
2. Bactérias ligadas reversivelmente às superfícies produzem substâncias poliméricas extracelulares (EPS) que promovem o desenvolvimento de ligações estimuladoras da coagregação, isto é, do reconhecimento e adesão entre bactérias geneticamente distintas, levando à transição de formas planctónicas para sésseis e firmando, ainda, a agregação celular à superfície.
3. Dá-se a colonização da superfície através do crescimento e divisão das bactérias fixas, formando microcolónias, que são consideradas as unidades organizacionais básicas de um biofilme.
4. Maturação do biofilme que, por sua vez, adquire uma arquitetura complexa, com uma matriz rica em EPS intercaladas com regiões menos densas que incluem canais de água altamente permeáveis que participam no transporte de nutrientes e resíduos.
5. Libertação de agregados celulares do biofilme e transferência dos mesmos para posterior fixação noutras superfícies.

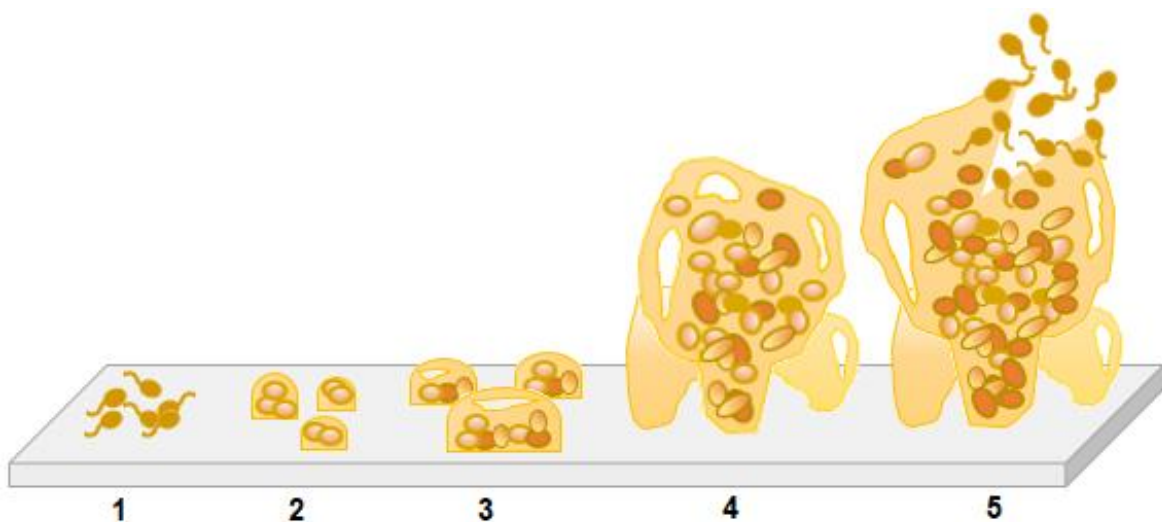


Figura 2 – Etapas da formação de biofilmes (Adaptado de Davies, 2003)

A virulência que caracteriza os biofilmes está muito dependente das toxinas e enzimas segregadas pelos microrganismos que os constituem, uma vez que estas modificam a sua arquitetura de acordo com variações no ambiente em que se encontram, de forma a manter a coesão e interação entre as células, ao mesmo tempo que protegem a sua biomassa de agentes antibiofilme. Também as trocas de ácido desoxirribonucleico (ADN) e fatores de superfície como as fímbrias, adesinas e *pili* contribuem para a estabilização da estrutura tridimensional e para a patogenia do biofilme.^{4,18,19}

O mecanismo de atuação dos biofilmes relaciona-se também com eventos sinalizadores intercelulares que conferem vantagens na sobrevivência bacteriana através da secreção de autoindutores de baixo peso molecular, constituindo um sistema de comunicação designado de *quorum sensing* (QS). Apesar de não estar ainda completamente caracterizado, pensa-se que o QS regula diversos comportamentos biológicos como a adesão celular e a produção pelas bactérias dos inúmeros constituintes da matriz extracelular, assim como a sua atividade metabólica e a expressão de fatores de virulência determinantes na indução de infeções no hospedeiro e na resistência aos antibióticos.^{6,17,20}

Alguns destes fatores são produzidos pela *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), entre outros microrganismos, e incluem: exotoxina A – um polipeptídeo que inibe a síntese proteica e bloqueia a resposta imunológica –, elastase – pertencente às metaloproteínases da matriz, degrada EPS e inativa agentes imunológicos –, pioverdina – uma molécula sinalizadora que controla a produção de outros fatores de virulência – e ramnolípido – que intervém na arquitetura do biofilme através da formação de canais.^{1,20}

O QS é também conhecido por estimular a libertação de citocinas e enzimas extracelulares, relacionando-se com a produção de peptídeos por bactérias *gram* positivas e de moléculas pertencentes à classe das N-acil-homoserina lactonas, que vão interagir com as células vizinhas de biofilmes *gram* negativos. Estas associam-se com uma proteína de ligação ao ADN, causando alterações na sua conformação e, deste modo, facilitando a transcrição de determinados genes, com vista à execução de funções específicas.^{1,3,21}

3.2. RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E DIFICULDADES NA TERAPÊUTICA

O insucesso crescente do tratamento de doenças infecciosas com agentes antimicrobianos não se prende apenas com os microrganismos que possuem uma resistência inata a alguns antibióticos, uma vez que existem bactérias que se apresentam na forma de biofilmes e estes demonstram uma tolerância a esta classe de fármacos cerca de mil vezes superior relativamente às células planctónicas correspondentes.^{2,3,16,21}

Outra questão que contribui para a persistência de infecções prende-se com a prescrição desmesurada e, por vezes, desapropriada de antibióticos, que veem a sua eficácia cada vez mais reduzida, assim como a suscetibilidade dos microrganismos que são alvo de terapêutica. No caso da *P. aeruginosa*, estima-se que cerca de 95% seja resistente a gentamicina, cotrimoxazol e tetraciclina.²¹

Contudo, não estão ainda completamente esclarecidos os fatores que conferem resistência aos biofilmes, estando estes dependentes das bactérias que os constituem e dos princípios ativos utilizados com vista à sua eliminação. Possíveis mecanismos de resistência incluem:^{2,3,6,16,21}

- ❖ Expressão de genes, não existentes nas formas planctónicas, que promovem a emergência de fenótipos distintos em diversas subpopulações que compõem o biofilme, convergindo em efeitos deletérios contra os antimicrobianos;
- ❖ Inativação dos antibióticos através da ação de EPS ou enzimas bacterianas presentes na matriz que envolve os biofilmes; pensa-se que as primeiras possam também tornar as bactérias menos suscetíveis à fagocitose;
- ❖ Redução da atividade metabólica com limitação da disponibilidade de nutrientes e consequente diminuição da velocidade de crescimento celular, o que confere alguma insensibilidade relativamente a agentes que possam penetrar no biofilme;
- ❖ Existência de bombas de efluxo que exteriorizam os antibióticos das células bacterianas;
- ❖ Alteração da composição das proteínas que integram a membrana citoplasmática dos biofilmes, com diminuição da permeabilidade celular aos agentes antimicrobianos;
- ❖ Presença de populações heterogêneas de células com diferentes padrões de resistência e ativação de uma resposta geral ao *stress* induzido por agentes químicos;
- ❖ Por fim, a própria estrutura complexa que caracteriza estas comunidades, assim como a sua elevada densidade, comparativamente a formas planctónicas, constitui uma barreira física que impede a penetração dos antibióticos em determinadas regiões dos biofilmes.

Alguns dos microrganismos resistentes mais comuns incluem: *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *Staphylococcus aureus* metilino-resistentes (MRSA), *Escherichia coli* (*E. coli*) e *P. aeruginosa*, com os três últimos a destacar-se como multirresistentes.¹²

3.3. BIOFILMES ASSOCIADOS A INFEÇÕES

As infecções causadas por biofilmes caracterizam-se frequentemente por uma apresentação tardia (relacionada com o crescimento lento destas comunidades) e localizada, assim como pela recorrência dos sintomas após a terapêutica com antibióticos, uma vez que estes, apesar de vantajosos na eliminação de microrganismos planctónicos, têm eficácia diminuída nas formas sésseis que se reproduzem no interior de biofilmes, continuando a propagação da doença após o *terminus* do tratamento instituído. Também o sistema imune humoral dos indivíduos fica comprometido, já que os biofilmes, além de resistirem aos seus mecanismos de defesa, promovem, por vezes, lesões colaterais dos tecidos circundantes através da dispersão de células individuais ou partes do biofilme que estimulam a libertação de mediadores de *stress* oxidativo pelas células fagocíticas.^{2,3,21,22}

Os biofilmes constituem a etiologia de cerca de 80% das infeções microbianas,^{17,21} estimando-se que estejam na origem de 60% daquelas adquiridas em ambiente hospitalar, associando-se a internamentos prolongados em pelo menos dois a três dias e custos económicos superiores.^{2,22,23} Predispõem sobretudo à ocorrência de infeções crónicas, em contraste com as células planctónicas, que promovem essencialmente processos agudos.²⁴

Estas comunidades patogénicas comprometem muitos doentes, especialmente os indivíduos imunocomprometidos e aqueles sujeitos à introdução de dispositivos médicos, como sejam tubos endotraqueais, lentes de contacto, próteses ortopédicas e valvulares cardíacas, *pacemakers*, cateteres urinários, de diálise peritoneal e venosos centrais, ventiladores, endoscópios e próteses penianas, ou mesmo cateteres venosos periféricos após alguns dias.^{1,2,21,25} A colonização destes dispositivos resulta em deterioração e perda de função, necessitando não raras vezes de substituição.¹ Nestes casos, os microrganismos podem disseminar-se rapidamente até à superfície de tecidos e órgãos internos por via hematogénica e, por vezes, como resultado de contaminação cirúrgica.^{22,26}

A patogenia dos biofilmes nas doenças não associadas a dispositivos médicos não está ainda completamente estabelecida,² mas as superfícies propensas ao seu desenvolvimento são numerosas e incluem peças dentárias e restante cavidade oral, lesões cutâneas, trato gastrointestinal, assim como a mucosa respiratória, entre outras.^{1,6}

A Tabela I exemplifica alguns dos biofilmes associados à etiologia de múltiplas infeções.

O *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) constitui a bactéria que mais contribui para o desenvolvimento de biofilmes na cavidade oral e, conseqüentemente, para a formação de cáries, manifestando a sua virulência através da produção de enzimas como a glicosiltransferase (*GTase*), facilitadora da adesão celular à superfície dentária. Outros

mecanismos incluem a alteração do fluxo de cálcio nas células epiteliais, bem como a libertação de ácidos promotores da desmineralização do esmalte e de toxinas que interferem com vias sinalizadoras da resposta imune contra a invasão bacteriana.^{2,27-29}

Tabela I – Exemplos de biofilmes associados a infeções (Adaptado de Costerton et al., 1999 e Davey et al., 2000)

Infeção/Doença	Biofilmes
Cáries dentárias	Cocos <i>gram</i> positivos acidogénicos (<i>Streptococcus spp.</i>)
Periodontite	Bactérias orais anaeróbicas <i>gram</i> negativas
Otite média	Estirpes de <i>Haemophilus influenzae</i>
Infeções músculo-esqueléticas	Cocos <i>gram</i> positivos (<i>Staphylococcus spp.</i>)
Fasciite necrotizante	<i>Streptococcus</i> do grupo A
Infeções do trato biliar	Bactérias entéricas (<i>E. coli</i>)
Osteomielite	Misto de espécies bacterianas e fúngicas
Prostatite bacteriana	<i>E. coli</i> e outras bactérias <i>gram</i> negativas
Endocardite bacteriana	<i>Streptococcus</i> do grupo <i>viridans</i>
Pneumonia associada à fibrose quística	<i>P. aeruginosa</i> e <i>Burkholderia cepacia</i>
<u>Infeções nosocomiais:</u>	
Pneumonia associada aos Cuidados Intensivos	Bacilos <i>gram</i> negativos
Suturas	<i>S. epidermidis</i> e <i>S. aureus</i>
<i>Shunts</i> arteriovenosos	<i>S. epidermidis</i> e <i>S. aureus</i>
Lentes de contacto (queratite)	<i>P. aeruginosa</i> e cocos <i>gram</i> positivos
Cistite associada a cateteres urinários	<i>E. coli</i> e outros bacilos <i>gram</i> negativos
Peritonite associada a diálise peritoneal	Variedade de bactérias e fungos
Tubos endotraqueais (pneumonia)	Variedade de bactérias (<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i>) e fungos
Cateteres venosos centrais (endocardite, septicémia)	<i>S. epidermidis</i> e outros
Válvulas cardíacas mecânicas	<i>S. aureus</i> e <i>S. epidermidis</i>
Aparelhos ortopédicos (septicémia)	<i>S. aureus</i> e <i>S. epidermidis</i>
Próteses penianas	<i>S. aureus</i> e <i>S. epidermidis</i>

Também a superfície de aparelhos ortodônticos fixos ou próteses dentárias compõem um ambiente propício à acumulação de placa bacteriana,³⁰ que representa um dos fatores etiológicos da gengivite e periodontite, resultando na infamação crônica dos tecidos, que pode incorrer em perda dentária e retração gengival.^{2,27} Estima-se que 40 a 50% da população adulta possa ser afetada por uma infecção gengival causada por biofilmes.⁸

Os *Streptococcus spp.*, além de outros microrganismos presentes na mucosa oral, poderão ainda contribuir para a ocorrência de doenças sistêmicas, como a endocardite, a osteomielite e a pneumonia por aspiração ou nosocomial associada à ventilação, que revela níveis de morbidade e mortalidade significativos.^{25,26,28,29}

A endocardite é uma patologia de gravidade considerável, com mortalidade na ordem dos 70%, e na sua etiologia estão também implicados biofilmes bacterianos presentes em próteses de substituição valvular, como o *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).^{2,17,21} Este constitui um dos microrganismos mais prevalentes nas infecções nosocomiais, associado a doenças com elevada morbidade, sendo que cerca de 60% dos isolados de *S. aureus* são resistentes à meticilina.^{31,32}

Biofilmes de *S. aureus* estão também associados à patogenia da otite média e de infecções da pele, tecidos moles e trato respiratório, por vezes complicadas com bacteriemia, sépsis ou síndrome do choque tóxico.^{9,17}

A polipose nasal e a rinosinusite são entidades maioritariamente associadas a este agente, produtor de enterotoxinas que atuam como superantígenos responsáveis pela ativação de uma resposta imune com libertação de mediadores de inflamação, desencadeando doenças com componente inflamatório crónico e persistente. Outras etiologias podem incluir *P. aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*) e *Streptococcus viridans* (*S. viridans*).^{24,33}

Após uma lesão cutânea, seja ela causada por uma cirurgia, queimadura ou traumatismo, o local é rapidamente colonizado por microrganismos gram positivos, como *S. aureus* e *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), bem como gram negativos, com destaque para *P. aeruginosa*, além de *E. coli*, *Klebsiella spp.* e *Acinetobacter spp.*, estimando-se que 60% dos ferimentos crónicos possam promover o desenvolvimento de biofilmes, que proliferam nos tecidos danificados e originam a infeção.^{1,34,35}

Um outro exemplo de infecções com origem em biofilmes é a que ocorre no trato genitourinário e a formação destes agregados na superfície de cateteres mantidos por um período prolongado, condicionando o desenvolvimento de ITUs. Estas são bastante prevalentes, causadas na sua maioria (80 a 90%) pela *E. coli*, sendo que outras bactérias como *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), *Proteus mirabilis* e *P.*

aeruginosa são também identificadas na sua etiologia. Ainda, biofilmes com *Streptococcus* do grupo B e *Enterococcus spp.* desencadeiam frequentemente prostatites.¹⁷⁻¹⁹

Estirpes de *P. aeruginosa* constituem uma das principais causas de infecções associadas a imunodeprimidos, nomeadamente nas vias respiratórias.^{6,25,26} Sabe-se, por exemplo, que os doentes com fibrose quística são mais suscetíveis ao desenvolvimento de pneumonias associadas à expressão aumentada de exopolissacarídeos em biofilmes do microrganismo em questão.^{1,22,25,26}

Também os fungos desempenham um papel importante na formação de biofilmes e consequente indução de infecções, concretamente o género *Candida spp.*, que faz parte da flora comensal das mucosas oral, vaginal e do trato gastrointestinal e pode causar micoses superficiais (vaginite, estomatite, rinossinusite, dermatite) ou sistémicas severas em indivíduos imunocomprometidos. Este é frequentemente isolado em infecções fúngicas nosocomiais, com prevalência descrita entre os 50 e 70%, na sua maioria associadas ao contacto com materiais médicos (por exemplo, cateteres urinários e intravasculares, sondas nasais ou próteses dentárias).^{10,36,37}

A virulência da *Candida albicans* (*C. albicans*) está dependente da sua capacidade de adquirir morfologias distintas, variando de formas leveduriformes a pseudo-hifas ou hifas, em resposta a estímulos ambientais. O tratamento constitui um desafio devido à natureza eucariótica das células fúngicas, que se assemelha à dos hospedeiros, e à resistência crescente contra antifúngicos, a par do que acontece com os biofilmes bacterianos.^{36,38}

4. PLANTAS MEDICINAIS

O uso excessivo e prolongado de antibioterapia e de outras terapêuticas convencionais conduz ao aumento crescente da resistência microbiana e à manifestação cada vez mais frequente dos efeitos adversos decorrentes dessa utilização, promovendo um maior interesse pelos benefícios conferidos pelas plantas medicinais e a pesquisa de agentes antimicrobianos nas mesmas.

É estimada a existência de cerca de 250 000 a 500 000 espécies botânicas no planeta que habitamos, sendo estas utilizadas instintivamente com objetivo curativo desde que surgiu a vida animal. Nos tempos ancestrais, a sua aplicação decorria sobretudo na alimentação, não apenas para aromatizar e condimentar refeições, mas também como forma de preservar a comida.^{7,12,13}

Com o despertar da medicina tradicional há mais de 60 000 anos, o seu uso viu-se incorporado com finalidades terapêuticas, condicionado, no entanto, pelo aparecimento de uma indústria farmacêutica cada vez mais pujante que restringiu a sua utilização nas sociedades urbanas, ainda que as suas propriedades fossem bem aceites pela população em geral.¹²

Efetivamente, para muitas pessoas, as plantas são os únicos agentes medicinais conhecidos e acessíveis,¹³ avaliando-se, de acordo com a OMS, que mais de 80% da população mundial apoia os seus cuidados de saúde primários na medicina tradicional.⁷

No final do século XX ressurgiu um novo interesse nas terapias não convencionais, muito devido à toxicidade das terapêuticas aplicadas à data,³⁹ e o uso destes agentes difundiu-se, não apenas em países subdesenvolvidos, mas um pouco por todo o mundo, especialmente na Europa, Estados Unidos da América, Canadá, Austrália e Japão, verificando-se nos últimos quinze a vinte anos um aumento significativo da investigação científica no que concerne o potencial terapêutico referente às plantas, aos seus extratos e às substâncias químicas que as constituem.¹³

Muitos dos fármacos utilizados na clínica corrente têm origem nestes metabolitos (Tabela II), pressupondo-se que os mesmos estejam presentes ou tenham constituído derivados sintéticos para o desenvolvimento de cerca de 50% dos fármacos ocidentais, o que vem reforçar a importância dos fitofármacos e o interesse da sua inclusão em novas terapias com mecanismos de ação distintos, com alvo nas doenças infecciosas emergentes.^{40,41}

De facto, as plantas medicinais são já descritas com múltiplas aplicações práticas com vista à manutenção e melhoria da condição geral de saúde das populações. Além do possível uso terapêutico e preventivo de várias infeções e doenças sistémicas como a hipertensão arterial,

aterosclerose e diabetes, a sua aplicação é também descrita em condições específicas, como infeções do foro ORL, do trato respiratório ou urogenital, ferimentos, queimaduras ou doenças cutâneas.¹² Estudos referentes a estes agentes naturais avaliam os seus efeitos farmacológicos, abrangendo áreas tão sensíveis como a oncologia, as neurociências e a doença inflamatória crónica múltipla, além das patologias enumeradas.

Atualmente, com os problemas decorrentes do excesso de prescrição médica e da utilização errónea dos antibióticos, tem havido uma maior consciencialização da população e um interesse crescente em adquirir maior autonomia no que concerne os seus cuidados de saúde.³⁹ A confiança na efetividade das drogas naturais, a quase inexistência de efeitos adversos declarados, bem como o seu preço reduzido, tendo em conta o presente cenário de aumento dos custos dos cuidados de saúde, faz com que estas sejam amplamente adquiridas, apesar de nem todos os seus compostos biologicamente ativos serem ainda bem conhecidos ou a sua atividade completamente caracterizada.⁷ Efetivamente, a automedicação é também apoiada pelo facto de muitos produtos à base de plantas serem vendidos em farmacêuticas e lojas biológicas e fitoterápicas como suplementos naturais de venda livre e com uma regulamentação muito deficiente.³⁹

Tabela II – Exemplos de princípios ativos com origem em plantas e o seu uso clínico (Adaptado de Murray, 2013)

Princípio ativo	Uso clínico	Fonte botânica	Família botânica
Atropina	Anticolinérgico	<i>Atropa belladonna</i>	<i>Solanaceae</i>
Cafeína	Estimula SNC	<i>Cola nitida</i>	<i>Malvaceae</i>
Cocaína	Anestésico local	<i>Erythroxylon coca</i>	<i>Erythroxylaceae</i>
Codeína	Analgésico/Antitússico	<i>Papaver somniferum</i>	<i>Papaveraceae</i>
Colchicina	Gota	<i>Colchicum autumnale</i>	<i>Colchicaceae</i>
Digoxina	Cardiotónico	<i>Digitalis lanata</i>	<i>Plantaginaceae</i>
Escopolamina	Sedativo	<i>Datura metel</i>	<i>Solanaceae</i>
Fisostigmina	Inibidor da colinesterase	<i>Physostigma venenosum</i>	<i>Fabaceae</i>
Morfina	Analgésico	<i>Papaver somniferum</i>	<i>Papaveraceae</i>
Pilocarpina	Parassimpaticomimético	<i>Pilocarpus jaborandi</i>	<i>Rutaceae</i>
Quinina	Malária	<i>Cinchona ledgeriana</i>	<i>Rubiaceae</i>
Reserpina	Anti-hipertensor	<i>Rauwolfia serpentine</i>	<i>Apocynaceae</i>

Assim, o enfoque nas plantas medicinais visa sobretudo validação científica exaustiva, bem como uniformização de resultados e avaliação da segurança antes que as mesmas possam ser comercializadas e aplicadas no desenvolvimento de novos agentes bioativos.¹²

4.1. VANTAGENS E DESVANTAGENS DO USO DE PLANTAS MEDICINAIS

As práticas medicinais que assentam no uso de plantas conferem benefícios multidimensionais para a saúde das populações, sendo apoiadas em três principais vantagens que incluem o seu relativo baixo custo, a segurança, com ínfimos efeitos secundários reportados comparativamente aos fármacos convencionais, e a facilidade com que podem ser adquiridas, como referido anteriormente.^{12,13}

Estas características são favorecedoras da aceitação generalizada do uso de plantas medicinais, acrescendo às suas propriedades terapêuticas cientificamente reconhecidas, com mecanismos de ação que frequentemente comprometem a etiologia de patologias distintas, assentando no facto de, na mesma planta, os seus múltiplos fitoconstituintes poderem produzir diversas ações farmacológicas.¹³

As plantas têm ainda eficácia comprovada quando utilizadas em combinação com outros fármacos, nomeadamente antibióticos, condicionando um efeito sinérgico antimicrobiano ou potenciando a ação que o uso isolado do medicamento demonstraria. Outro benefício reside na redução da resistência microbiana.³⁸

Todavia, o uso seguro destes agentes naturais poderá estar dependente do tipo de extrato e da concentração utilizada, da farmacogenómica, da condição própria do indivíduo/doente, da medicação concomitante e da interferência com a dieta, entre outras.

Assim, pequenas concentrações podem até ser úteis na manutenção e proteção da flora comensal do ser humano, mas poderão não surtir o efeito desejado quando o objetivo visa tratar patologias associadas a biofilmes, por exemplo.⁴² Pelo contrário, algumas substâncias biologicamente mais ativas poderão demonstrar maior toxicidade, condicionadas pela forma como se processa a extração das plantas, daí que seja necessária a standardização das doses indicadas para consumo.¹²

Desta forma, a OMS, que constitui a autoridade que mais influencia as políticas reguladoras destes produtos, tem promovido a inclusão a nível mundial das terapias complementares, responsabilizando alguns países, com número crescente ao longo das últimas décadas, através da implementação de estratégias (a última referente aos anos 2014-2023) que visam

avaliações detalhadas da qualidade e potencial das plantas e a sua integração na prática da medicina baseada na evidência.^{41,43}

A EMA constitui o organismo responsável pela supervisão e avaliação científica e da segurança relativa às substâncias com propriedades farmacológicas desenvolvidas na União Europeia. Existe também uma entidade local representativa de cada país, sendo que em Portugal é o Infarmed que monitoriza e certifica a utilização dos medicamentos. Contudo, são poucos os fitoterápicos comercializados e enquadrados no Estatuto do Medicamento. Para além disso, alguns perderam esse estatuto por assentarem em ensaios antigos e dessa forma carecerem de estudos científicos rigorosos, o que condicionou, em reavaliações periódicas, dúvidas relativas à eficácia e segurança destas terapêuticas.⁴¹ Por exemplo, no nosso país, a regulação da maioria dos suplementos à base de plantas está na dependência da Direção Geral de Alimentação e Veterinária, na dependência do Ministério da Agricultura, e da Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE), na dependência do Ministério da Economia.

4.2. FITOFÁRMACOS COM AÇÃO ANTIMICROBIANA

As plantas contêm na sua composição um número de metabolitos estimado na ordem das centenas de milhares, que se distinguem como primários e secundários.⁴¹ Os primeiros encontram-se em todas as formas de vida e incluem os hidratos de carbono, proteínas e lípidos, designando funções estruturais e de armazenamento de energia. Os metabolitos secundários têm distribuição atribuída às formas vegetais e as suas ações podem ser muito variáveis. Alguns conferem mecanismos de defesa contra predadores, como sejam insetos, animais herbívoros ou microrganismos, enquanto outros auxiliam na polinização. Podem também ser responsáveis pelo odor de algumas plantas, como acontece com os terpenos, ou pela sua pigmentação, no caso dos taninos e quinonas.^{39,44}

Estas moléculas biologicamente ativas descrevem também atividades antimicrobianas, dependentes da sua concentração, assim como da sua ação sinérgica, e constituem um alvo de estudo muito atrativo, com interesse crescente nas suas propriedades, visando estabelecer alternativas aos fármacos convencionais.¹²

Assim o efeito antimicrobiano dos extratos de plantas relaciona-se com três principais grupos de fitoquímicos: compostos fenólicos, alcalóides e terpenos. Estes desempenham também um papel importante na prevenção e controlo do desenvolvimento de biofilmes, nomeadamente os polifenóis, que impedem a sua adesão a superfícies ou tecidos epiteliais, e os flavonóides, que intervêm com moléculas reguladoras de mecanismos de *quorum*

sensing.^{40,45} Os alcalóides, por sua vez, estimulam a atividade dos leucócitos e macrófagos, desenvolvendo assim o seu potencial antimicrobiano.¹²

A tabela III sintetiza alguns dos metabolitos que compõem as classes principais referidas, bem como os mecanismos de ação que descrevem.

Tabela III – Classificação de metabolitos secundários e as suas propriedades antimicrobianas
(Elaborado com base em Cowan, 1999 e Barnes et al., 2007)

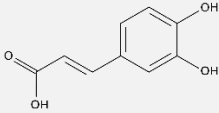
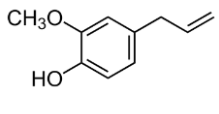
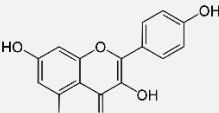
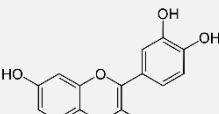
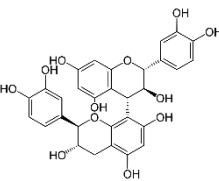
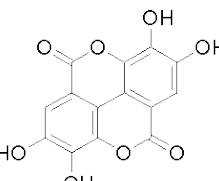
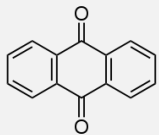
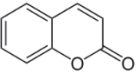
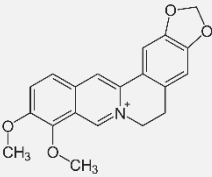
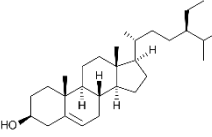
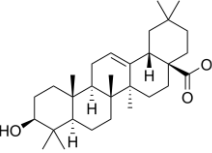
Classes	Exemplos de metabolitos	Atividade antimicrobiana	
Compostos fenólicos	 Ácido cafeico Ácido cinâmico	Vírus, bactérias e fungos; Inibição enzimática pelos compostos oxidados	
	 Eugenol	Bacteriostático, fungostático	
	 Kaempferol  Quercetina	Kaempferol Quercetina Miricetina Apigenina Rutina Crisina Galangina	Vírus, bactérias, fungos; Disrupção de membrana, inibição de <i>GTases</i> no <i>S. mutans</i>
	 Proantocianidina  Ácido elágico	Galotanino Elagitanino Proantocianidina Ácido elágico	Bactérias, fungos e parasitas; Promovem fagocitose, efeitos hidrofóbicos, inativação de adesinas, enzimas, polissacarídeos, proteínas de transporte e proteases, disrupção de membrana, inibição do crescimento

Tabela III – Classificação de metabolitos secundários e as suas propriedades antimicrobianas (continuação) (Elaborado com base em Cowan, 1999 e Barnes et al., 2007)

Classes		Exemplos de metabolitos		Atividade antimicrobiana
Compostos fenólicos	Quinonas	 Anthraquinona	Anthraquinona Ubiquinona Naftoquinona	Bacteriostático (<i>P. aeruginosa</i>) e bactericida; Inativação de adesinas, polipeptídeos da parede celular e enzimas
	Cumarinas	 Cumarina	Cumarina Ácido hidroxicinâmico Fitoalexina Varfarina	Vírus, bactérias gram positivas, fungos (<i>C. albicans</i>); Interação com ADN eucariótico, estimulam macrófagos
Alcalóides		 Berberina	Berberina Piperina Xantina Piperidina	Vírus, bactérias; Atravessam a parede celular, interagem com ADN
Terpenos		 Beta-sitosterol  Ácido oleanólico	Campesterol Beta-sitosterol Ácido oleanólico Ácido ursólico Saponinas Artemisina Capsaicina	Vírus, bactérias (<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i>), fungos (<i>C. albicans</i>), parasitas

4.3. EXEMPLOS DE PLANTAS MEDICINAIS COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

4.3.1. *Allium sativum*



Figura 3 – Alho (*Allium sativum*)

[Fotografia de Helena Melanda]

4.3.1.1. Características

Allium sativum (*A. sativum*) (Figura 3), vulgo alho, é uma planta herbácea perenial cujo bolbo, fresco ou desidratado, é comestível e frequentemente utilizado na culinária ou com objetivos medicinais. Este é composto por bolbos secundários, comumente designados de “dentes de alho”.⁴⁵

Pertencente à Família *Amaryllidaceae*, pode crescer até aos 70 cm de altura e possui folhas retas e largas, bem como flores verdes ou avermelhadas. Tem origens descritas na Ásia central e ocidental, com posterior distribuição pela região mediterrânica, sendo atualmente cultivado em todo o mundo.^{45,46}

4.3.1.2. Composição

O óleo essencial representa até 0,36% do alho e é muito rico em fitoquímicos, como sejam a alicina, que lhe confere um odor característico, o dialil-sulfido e dialil- di- e trissulfido, considerados responsáveis por muitas propriedades farmacológicas.⁴⁶

Inclui igualmente compostos sulfurados como as aliinas (sulfóxidos de alquilcisteína), que são convertidas em alicina depois de se cortarem os bulbos frescos, através de uma reação enzimática promovida pela aliinase, que é inativada pelo calor.^{45,46}

Outros constituintes significativos incluem ajoenes (compostos organosulfurados que contêm grupos funcionais sulfóxido e dissulfido), resultantes da fermentação dos bulbos secos em óleos.^{39,47}

O alho possui ainda minerais em altas concentrações, nomeadamente o selénio, bem como vitaminas, proteínas (cerca de 16,8%) e frutanos (polissacarídeos).^{45,46}

4.3.1.3. Uso tradicional

A. sativum é utilizado no tratamento de diversas patologias desde a antiguidade, com registos que reportam há cerca de 5000 anos atrás, admitindo-se a sua eficácia contra a hipertensão arterial, cefaleias, mordeduras de animais e dermatofitoses.⁴⁶

A sua utilização está descrita também na prevenção de infeções, nomeadamente do trato respiratório, e patologia digestiva, com diarreia e flatulência.⁴⁵ Outros usos consistem no tratamento de vaginite, odontalgia e coriza, bem como malária, tuberculose, doença mental, renal e hepática, asma e diabetes, entre outras.^{8,46,47}

O alho é também aplicado externamente em calos e verrugas, e no alívio de dores musculares, nevralgias, artrite e otites externas.⁴⁵

4.3.1.4. Regulamentação internacional

❖ European Medicines Agency⁴⁸

- Committee on Herbal Medicinal Products
- European Union herbal monograph on *Allium sativum* L., *bulbus*

Segundo a monografia da EMA, o alho tem utilidade reconhecida como adjuvante de terapêuticas preventivas da aterosclerose e no alívio sintomático da coriza.

❖ Phytotherapeutic Monographs (BGA, Commission E, Germany)⁴⁹

A Comissão E valida a utilização do alho como:

- Terapêutica de suporte para a dislipidemia, associada a medidas dietéticas
- Prevenção da aterosclerose

4.3.1.5. Potencial terapêutico

No que diz respeito às propriedades medicinais do alho, este descreve múltiplas atividades, de entre as quais antioxidante, antitrombótica, fibrinolítica, antiaterosclerótica e hipolipidêmica, derivadas da sua composição em alicina, que lhe confere ainda uma ação antibacteriana potente, com um espectro muito amplo de atividade contra *gram* positivos e negativos, nomeadamente microrganismos multirresistentes implicados na patogenia de infeções nosocomiais.^{12,44,45,47}

Os compostos dialil-sulfido e dialil-dissulfido atuam sobretudo nos níveis de glutatona reduzida, demonstrando potencial pró-oxidante, antifúngico e apoptótico.⁵⁰

Numerosos estudos *in vitro* e *in vivo* realizados nas últimas décadas validam também as propriedades anti-inflamatória, anti-hipertensiva, imunomoduladora, hepatoprotetora, antiviral e hipoglicemiante atribuídas ao alho, entre muitas outras.^{44,46,47}

4.3.1.5.1. Atividade antimicrobiana e antibiofilme

Supracitado como tendo potencial antimicrobiano, o alho constitui alvo de muitos estudos que comprovam a sua atividade. Mohsenipour e Hassanshahian demonstraram as propriedades antibiofilme dos extratos etanólico e metanólico de *A. sativum* contra seis bactérias etiopatogénicas de múltiplas infeções, tendo-se verificado uma redução mais marcada da formação de biofilmes de *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*), *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*, sem eliminar, contudo, as bactérias em questão. No geral, os extratos utilizados promoveram uma diminuição superior a 60% dos biofilmes de todas as espécies em estudo. O extrato etanólico desenvolveu uma atividade antibacteriana mais evidente, com concentrações inibitórias mínimas (MICs) que variaram de 0,156 a 2,5 mg/mL consoante a estirpe em causa. A Tabela IV resume as concentrações mínimas inibitórias e bactericidas apuradas para ambos os extratos.⁸

Um estudo *in vitro* avaliou a ação tópica antibiofilme do alho através da sua aplicação como pomada em modelos constituídos por biofilmes de estirpes *gram* positivas e negativas, isolados de ferimentos induzidos por queimaduras. Nas bactérias planctónicas, o alho mostrou efeitos inibitórios potentes contra *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. faecalis*, esta última necessitando de concentrações mais elevadas para a obtenção de resultados similares às outras. Relativamente aos biofilmes em análise, a pomada preveniu a formação por *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e *K. pneumoniae*, tendo praticamente impedido a colonização do primeiro microrganismo referido. Também o efeito antibiofilme se verificou naqueles já estabelecidos ou parcialmente formados, nomeadamente para as

estirpes estafilocócicas, com evidências diminutas e variáveis no que concerne as *gram* negativas.³⁴

Tabela IV – Atividade antibacteriana de extratos de *Allium sativum* contra diversos microrganismos (Adaptado de Mohsenipour e Hassanshahian, 2015)

Microrganismos	MIC ¹ (mg/mL)		MBC ² (mg/mL)	
	Extrato metanólico	Extrato etanólico	Extrato metanólico	Extrato etanólico
<i>S. aureus</i>	1,25	2,5	2,5	5
<i>B. cereus</i>	0,156	0,078	0,625	2,5
<i>S. pneumoniae</i>	0,312	0,312	1,25	2,5
<i>P. aeruginosa</i>	1,25	0,625	5	1,25
<i>E. coli</i>	0,625	0,156	2,5	0,312
<i>K. pneumoniae</i>	0,312	0,156	0,625	0,625

¹MIC: Concentração inibitória mínima; ²MBC: Concentração mínima bactericida

Outro aspeto a destacar deste estudo é o efeito duradouro do agente utilizado que, com uma única aplicação ou aplicações tópicas a cada 3 dias, inibiu o desenvolvimento de biofilmes de *S. aureus* durante 9 dias. Os autores ressaltam que este tipo de formulação tópica confere a vantagem do contacto direto entre o agente terapêutico e as bactérias colonizadoras, podendo ser utilizada na prevenção de infeções induzidas por biofilmes, decorrentes de lesões cutâneas.³⁴

Gull et al. desenvolveram também um ensaio *in vitro*, mostrando que os extratos aquoso, etanólico e metanólico do alho possuíam atividade antibacteriana, mais potenciada pelo primeiro, com a seguinte ordem de suscetibilidade: *S. epidermidis* > *S. aureus* > *Bacillus subtilis* > *P. aeruginosa* > *K. pneumoniae* > *Salmonella typhi* > *E. coli* > *Shigella*, averiguando que as bactérias *gram* positivas foram mais sensíveis ao extrato do que as *gram* negativas (Tabela V).⁵¹

Tabela V – Concentração inibitória mínima (MIC) de diferentes extratos de alho contra vários microrganismos (Adaptado de Gull et al., 2012)

Microrganismos	MIC (mg/mL)		
	Extrato aquoso	Extrato etanólico	Extrato metanólico
<i>E. coli</i>	0,1	0,3	0,2
<i>P. aeruginosa</i>	0,09	0,5	0,9
<i>B. subtilis</i>	0,1	0,4	1
<i>Shigella</i>	0,1	0,07	0,2
<i>S. aureus</i>	0,2	0,8	1
<i>K. pneumoniae</i>	0,2	0,3	0,8
<i>S. epidermidis</i>	0,09	0,6	0,9
<i>S. typhi</i>	0,2	0,8	0,9

O conteúdo em alicina na composição de *A. sativum* intervém com fatores de virulência bacterianos controlados por mecanismos de *quorum sensing*, além de possuir efeitos inibidores da formação e adesão de biofilmes de *P. aeruginosa*, como reportaram Lihua et al. Quando administrado na concentração de 128 µg/mL, este fitoquímico diminuiu significativamente a produção de polissacarídeos extracelulares, bem como a expressão de alguns fatores de virulência (Tabela VI), pensando-se que o mesmo possa interferir nos mecanismos de resistência da bactéria.²⁰

Tabela VI - Produção de fatores de virulência bacterianos controlados por mecanismos de *quorum sensing* em resposta ao tratamento com alicina (Adaptado de Lihua et al., 2013)

Fatores de virulência	Controlo	Alicina, 128 µg/mL	t	p
Exotoxina A, pg/µL	19,630 ± 0,573	6,529 ± 0,289	57,699	0,0001
Elastase, DO*	0,467 ± 0,003	0,032 ± 0,001	354,284	0,0001
Pioverdina, g/L	9325,833 ± 367,675	7819,167 ± 111,800	13,582	0,0001
Ramnolípido, g/L	2,009 ± 0,063	0,269 ± 0,009	76,710	0,0001

*DO: densidade ótica

Foi ainda investigado o efeito da alicina no processo de desenvolvimento de biofilmes, através da monitorização da sua morfologia e de alterações estruturais, tendo-se apurado o aumento da densidade bacteriana, assim como a restrição do espaço intersticial do biofilme e do aporte de oxigénio e nutrientes.²⁰

O potencial antifúngico do alho é também avaliado em diversos estudos, especialmente contra o género *Candida spp.* Yousuf et al. testaram os efeitos de dialil-sulfido (DAS) e dialil-dissulfido (DADS) na secreção enzimática de duas estirpes de *C. albicans*, mostrando que ambos os componentes promoveram a sua diminuição em concentrações subletais. Mais concretamente, DAS e DADS revelaram MICs na ordem dos 450-550 e 40-60 µg/mL, respetivamente. Com cerca de metade destas concentrações, estes compostos inibiram a produção de proteinase e fosfolipase entre os 24 a 64%. Ainda, para as mesmas concentrações, impediram o dimorfismo dos fungos em análise, reduzindo a proporção e o comprimento das hifas após uma exposição de 300 minutos. Desta forma, pensa-se que estes fitoquímicos integrantes do alho poderão atuar na prevenção dos estádios iniciais de infeções fúngicas.⁵⁰

Num outro estudo, foi avaliada a eficácia *in vitro* do óleo essencial de *A. sativum* comparativamente ao fluconazol, com ambos os agentes antifúngicos a promover a diminuição dos biofilmes de *Candida spp.* na superfície de próteses dentárias. Demonstrou-se que são necessárias concentrações muito mais elevadas para eliminar biofilmes, relativamente às que promovem a inibição de células planctónicas (Tabela VII). Esta diferença não foi tão significativa no que diz respeito ao fluconazol, no entanto, importa referir que cerca de 60% das estirpes em estudo evidenciou resistência ao antifúngico.⁵²

Tabela VII - Comparação da atividade antifúngica do óleo essencial de *Allium sativum* e fluconazol em células planctónicas e biofilmes de *Candida spp.* (Adaptado de Mendoza-Juache et al., 2017)

Espécies de <i>Candida spp.</i> (n=48)	MIC ₅₀ de <i>A. sativum</i> , µg/mL			MIC ₅₀ do fluconazol, µg/mL		
	Células planctónicas	Biofilmes	p	Células planctónicas	Biofilmes	p
<i>C. albicans</i> (n=25)	236,2	603,1	≤ 0,01	8,9	64	≤ 0,01
<i>C. glabrata</i> (n=11)	321	640,6	0,09	13,6	64	≤ 0,01
<i>C. tropicalis</i> (n=10)	188	667,0	0,08	11,1	> 132	≤ 0,01
<i>C. krusei</i> (n=2)	503	> 1000	-	> 132	> 132	-

Os autores especulam que esta desproporção dos resultados poderá ser devida à estrutura dos biofilmes, bem como aos fatores de virulência que estes produzem, e ainda à fase em que se encontra o seu desenvolvimento, sendo que biofilmes maduros requereram concentrações mais elevadas para a promoção de atividade antifúngica.⁵²

4.3.1.6. Efeitos adversos e precauções

O consumo de alho está contraindicado nos casos de hipersensibilidade aos princípios ativos que o compõem, bem como nos doentes que estão sob terapêutica com saquinavir ou ritonavir, pois poderá cursar com perda de resposta e aumento da resistência aos antirretrovirais. Deverá ainda ser interrompido pelos indivíduos que serão sujeitos a uma intervenção cirúrgica, nos sete dias que a antecedem, pelo risco hemorrágico que concerne o pós-operatório. Não há evidências que comprovem a sua utilização em grávidas ou crianças e adolescentes, devendo nestes casos ser evitado ou consumido com especial atenção.^{47,53}

O alho está associado a alguns efeitos indesejáveis, que podem incluir dor e distensão abdominal, flatulência e anorexia, bem como hemorragias, cefaleias, tonturas e sudorese. São também descritas reações alérgicas como conjuntivite, rinite, dermatite de contacto ou broncospasmo. Pode ainda surgir um odor corporal desagradável ou halitose.^{47,53}

Quanto a interações farmacológicas, além dos fármacos contraindicados, a utilização de preparações com alho deverá ser monitorizada em doentes a fazer tratamento com antiagregantes plaquetares ou anticoagulantes orais, pelo aumento do risco hemorrágico, ou com fármacos sujeitos a extensa metabolização hepática.^{47,53}

4.3.2. *Berberis vulgaris*



Figura 4 – Uva-espim (*Berberis vulgaris*)

[<https://pixabay.com/> (acesso livre sem *copyright*, acedido a 30/01/2019)]

4.3.2.1. Características

Berberis vulgaris (*B. vulgaris*) (Figura 4), vulgarmente conhecida como bérberis ou uva-espim, é uma espécie botânica da Família *Berberidaceae* nativa da Europa, que se naturalizou na América, norte de África e Ásia central. Em Portugal, distribui-se espontaneamente por sebes, sendo também cultivada para ornamentar jardins. Cresce até 2 metros de altura, constituindo uma planta arbustiva, espinhosa, com flores amarelas e cujos frutos e raízes auferem propriedades medicinais.⁴⁵

4.3.2.2. Composição

Os compostos químicos presentes na raiz da bérberis incluem alcalóides isoquinolínicos como berberina, berbamina, oxiacantina e ainda columbamina, palmatina, jatrorrizina e magnoflorina, constituindo também uma fonte rica de vitamina C. Os frutos registam quantidades vestigiais destes alcalóides, contendo ainda antocianinas e os ácidos clorogénico, málico e acético.^{31,32,47,54,55}

4.3.2.3. Uso tradicional

O extrato alcoólico obtido do fruto da bérberis tem uso descrito em patologias respiratórias, hepáticas e da retina, bem como no alívio de pirose e cólicas abdominais. Reporta ainda vantagens no tratamento de infeções e doenças do trato urinário, utilizando-se também como indutor do apetite. Na medicina tradicional, a casca da raiz da planta aplica-se para disfunções renais e biliares, diarreia, gastroenterites, doença hemorroidária, reumatismo e tuberculose.^{45,47,56}

4.3.2.4. Regulamentação internacional

❖ European Medicines Agency⁴⁸

De momento, a EMA não tem monografia para esta espécie botânica.

❖ Phytotherapeutic Monographs (BGA, Commission E, Germany)⁴⁹

De acordo com a Comissão E, uma vez que a eficácia das aplicações da uva-espim não está documentada, o seu uso terapêutico não pode ser recomendado.

Ainda assim, destaca-se uma profusa utilização de *B. vulgaris* na medicina *Ayurvédica*, com múltiplos trabalhos realizados em centros de investigação de referência, traduzidos em publicações em revistas com *Impact Factor*.

4.3.2.5. Potencial terapêutico

As propriedades medicinais que distinguem os frutos e raiz da bérberis incluem imunoestimulação inespecífica, bem como o aumento da absorção iónica, devido ao seu conteúdo em vitamina C. A sua composição acídica confere propriedades diuréticas ligeiras e estudos realizados em animais demonstraram também efeitos cardiovasculares, com redução da pressão arterial, além do potencial colagogo, antipirético, antissético, peristáltico, adstringente, diaforético, expetorante, hepatoprotetor, homeopático, laxante e ainda antimicrobiano contra bactérias, vírus, protozoários, fungos (nomeadamente do género *Candida spp.*) e parasitas.^{45,47,54}

4.3.2.5.1. Atividade antimicrobiana e antibiofilme

Diversos estudos têm sido realizados de forma a validar o potencial antibacteriano desta espécie e do principal composto bioativo que a constitui, fundamentando a sua utilização no tratamento de patologias infecciosas recorrentes, como demonstraram Zuo et al. num estudo⁵⁶ que visou avaliar a atividade sinérgica da berberina e de um derivado sintético – 8-acetonil-dihidroberberina (A-Ber) – associados a fármacos convencionais representativos de várias classes de antibióticos, contra dez estirpes de MRSA clinicamente isoladas, tendo a berberina evidenciado ação antibacteriana (MIC: 32-128 µg/mL) semelhante à da ampicilina e superior à da cefazolina e azitromicina, quando utilizadas isoladamente, ficando apenas aquém da levofloxacina.

O efeito bactericida decorrente do uso combinado de antibióticos e fitoquímicos surtiu resultados sinérgicos significativos contra as estirpes avaliadas, obtidos pelas combinações de berberina e do composto sintético com azitromicina e levofloxacina, que promoveram uma redução bacteriana superior entre os 50 e 96%, face ao uso dos agentes isolados. O mesmo já havia sido observado em estudos anteriores referentes à ciprofloxacina, ampicilina e oxacilina.³¹ No geral, A-Ber demonstrou ação antibacteriana mais potente contra o MRSA, comparativamente à berberina, pensando-se que a primeira possa evidenciar maior permeabilidade membranar.⁵⁶

Também a associação de cloreto de berberina com o ácido fusídico determinou um efeito sinérgico contra sete estirpes de MSRA, duas das quais altamente resistentes ao antibiótico, pelo que se presume que este fitoconstituente presente em *B. vulgaris* possa atuar em fatores bacterianos que conferem resistência ao fármaco, uma vez que o composto preveniu o desenvolvimento de biofilmes, tendo também interferido com a arquitetura daqueles já parcialmente formados.³¹

Num estudo mais recente, a combinação de berberina com totarol (um diterpeno, isolado de *Podocarpus totara*) demonstrou igualmente atividade sinérgica antibacteriana, promovendo o decréscimo na quantidade de eDNA (*extracelular genomic DNA*) e de PIA (adesina intercelular polissacarídica), determinantes na adesão bacteriana durante a fase inicial da formação de biofilmes de *S. aureus*. A berberina isolada apurou também um efeito inibidor dos biofilmes, ainda que mais ligeiro em comparação com a associação dos dois compostos (Tabela VIII).³²

Tabela VIII – Efeito da berberina (128 µg/mL) e totarol (4 µg/mL) isolados e em combinação na formação de biofilmes de *S. aureus* (Adaptado de Guo et al., 2015)

Agentes	Biofilmes de <i>S. aureus</i> (A595*)
Controlo	3,7
Berberina	2,1
Totarol	2,4
Berberina + Totarol	0,6

*A595: densidade ótica determinada a 595 nm

Dziedzic et al. debruçaram a sua investigação sobre a ação do cloreto de berberina em biofilmes constituídos por *Streptococcus* cariogénicos, nomeadamente o *S. mutans*, verificando-se a inibição do seu crescimento com uma MIC de 1024 µg/mL. Foi também avaliado, à semelhança de estudos anteriores, o sinergismo com antibióticos como a penicilina, eritromicina e clindamicina, detetando-se que estas associações seriam comparáveis ao efeito induzido pelos fármacos usados isoladamente em concentrações mais elevadas, tornando sugestivo o uso da berberina como adjuvante da antibioterapia na profilaxia de infeções como a endocardite bacteriana, relacionada com procedimentos dentários invasivos.⁵⁵

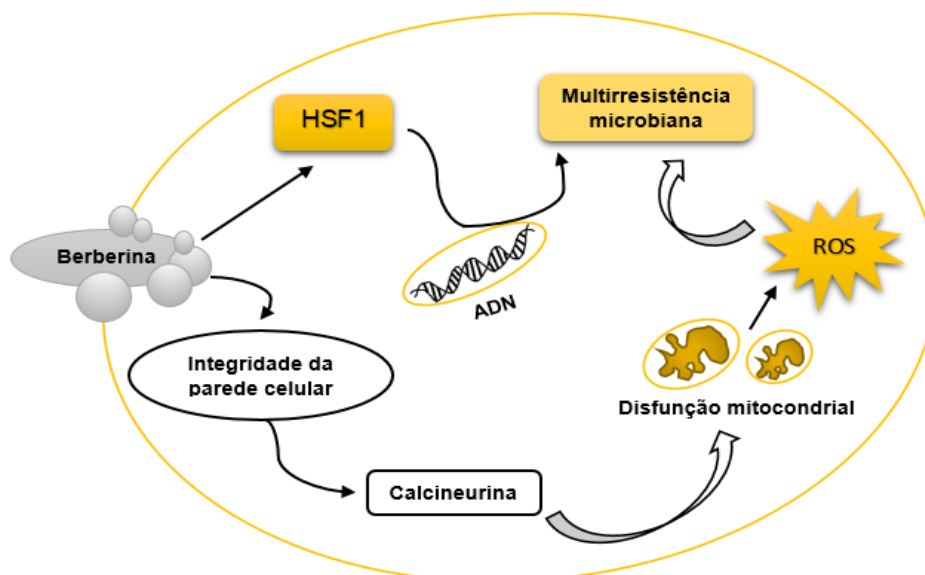


Figura 5 – Esquematização dos mecanismos de atuação da berberina na *Candida albicans* (Adaptado de Dhamgaye et al., 2014)

Tradicionalmente descrita também pelas suas propriedades antifúngicas, os resultados científicos têm validado esta atividade, demonstrando que a berberina atua sob diversos mecanismos (Figura 5), induzindo a perda de viabilidade celular e promovendo a desintegração e o aumento da permeabilidade membranar nos biofilmes de *C. albicans*. Estudos^{54,57} sugerem também que este alcalóide natural se incorpora no ADN dos microrganismos patogênicos, intervindo nos processos de transcrição e replicação, nomeadamente através da interação com um gene regulador da transcrição envolvido na adaptação térmica do fungo, que codifica uma proteína designada de *heat shock transcription factor 1* (HSF1), o que impossibilita a continuidade do ciclo celular. Atua ainda pela produção de espécies reativas de oxigénio (ROS) e a nível da atividade mitocondrial, afetando, conseqüentemente, o processo de respiração celular e obtenção de energia pelas células.⁵⁴

Mais concretamente, no estudo levado a cabo por Silva et al. os efeitos antifúngicos da berberina resultaram na diminuição da atividade celular e inibição do crescimento dos biofilmes, bem como de células planctónicas de *C. albicans*, com concentrações de 37,5 e 8 µg/mL, respetivamente.⁵⁴

4.3.2.6. Efeitos adversos e precauções

Não são conhecidas interações farmacológicas nem efeitos secundários subjacentes ao consumo de bérberis. A citotoxicidade da berberina foi também descrita em vários estudos como sendo insignificante, tornando-a apta a usar em doses terapêuticas.^{54,55,57} A sua sobredosagem (superior a 4 mg) poderá condicionar alguns sintomas como vômitos, diarreia, convulsões, taquicardia e hipotensão.^{45,47}

4.3.3. *Betula spp.*



Figura 6 – Bétula (*Betula spp.*)

[Fotografia de Celso Pereira]

4.3.3.1. Características

As bétulas (Figura 6), nome comum pelo qual se designam as plantas pertencentes ao género *Betula*, da Família *Betulaceae*, são árvores com tamanho médio, oriundas de regiões de clima temperado do hemisfério norte. Neste género estão incluídas as espécies *Betula alba* (*B. alba*), *Betula pendula* (*B. pendula*), *Betula pubescens* (*B. pubescens*) e *Betula verrucosa*, com origem europeia, que se estendem desde os territórios a norte do Mediterrâneo até à Sibéria. Podem encontrar-se algumas representações no Norte e Centro de Portugal, sobretudo em zonas húmidas e próximas de cursos de água.⁴⁵

Algumas árvores podem crescer até aos 20 metros de altura, como acontece com a *B. alba*. Durante a primavera colhem-se as folhas, a casca e, mais raramente, a seiva para que possam, posteriormente, constituir objeto de uso terapêutico.⁴⁵

4.3.3.2. Composição

A bétula contém na sua composição betulina (um terpeno), álcool triterpénico e flavonóides que incluem hiperóxido, quercetina e miricetina. Detém ainda elementos como as proantocianidinas, ácido ascórbico, glicosídeos monoterpénicos e derivados do ácido cafeico.^{42,45,58}

A seiva da bétula contém cerca de 6% de fenóis, de entre os quais gaiacol, cresol, catecol e ácido pirogálico.⁴⁵

4.3.3.3. Uso tradicional

O uso das folhas (frescas ou secas) é descrito no tratamento da inflamação causada por infeções bacterianas do trato urinário, assim como na litíase renal. Tópicamente, são utilizadas na alopecia, dermatites descamativas do couro cabeludo e dermatite actínica, pelo elevado teor em betulina.^{45,47}

Mais raramente, a seiva é utilizada na medicina tradicional na forma de pomada, pela vantagem que a sua aplicação externa confere no tratamento de infeções cutâneas parasitárias e ainda em doenças reumáticas, nomeadamente artrite gotosa. Quando empregada sob a forma de preparação líquida, pode auxiliar no tratamento do eczema atópico, psoríase e escabiose.^{45,47}

A bétula tem ainda utilização descrita no alívio da dispepsia, diarreia, mialgias e nevralgias.⁴⁷

4.3.3.4. Regulamentação internacional

❖ **European Medicines Agency**⁴⁸

- Committee on Herbal Medicinal Products
- European Union herbal monograph on *Betula pendula* Roth and/or *Betula pubescens* Ehrh. as well as hybrids of both species, *folium*

Segundo a monografia da EMA, as folhas da bétula têm utilidade reconhecida no tratamento de distúrbios *minor* do trato urinário, promovendo o aumento da diurese.

❖ **Phytotherapeutic Monographs (BGA, Commission E, Germany)**⁴⁹

A Comissão E valida a utilização da bétula nas seguintes:

- Lavagem vesical em ITUs e litíase renal
- Terapêutica de suporte para doenças reumáticas

4.3.3.5. Potencial terapêutico

As partes medicinais de *Betula spp.* incluem a casca, folhas e sementes ou amentos, que são dotadas de atividades analgésica, antibacteriana, anti-inflamatória, antipirética, antissética, adstringente, depurativa e diurética, devido ao seu conteúdo em flavonóides. Algumas investigações descrevem o seu potencial em formas de melanomas, pela capacidade de inibição de metilação do ADN em melanócitos. Os hidrocarbonetos aromáticos e alifáticos presentes na seiva conferem-lhe propriedades antiparasitárias, enfatizando o seu uso em algumas doenças dermatológicas.^{45,47}

4.3.3.5.1. Atividade antimicrobiana e antibiofilme

A bétula tem sido testada com vista a avaliar as suas propriedades antimicrobianas, nomeadamente contra *Streptococcus* da mucosa oral indutores de biofilmes. No estudo de Lee, o extrato de *Betula schmidtii* (*B. schmidtii*) foi eficaz na restrição do crescimento de *S. mutans* com uma concentração de 31,25 µg/mL, tendo demonstrado a melhor atividade antibacteriana contra este microrganismo na forma planctónica, de entre as quatro plantas em análise. No que diz respeito ao biofilme constituído por *S. mutans*, este foi mais suscetível ao extrato de *Sophora flavescens* (*S. flavescens*), seguindo-se *B. schmidtii*, ambas na concentração de 125 µg/mL.

Importa ainda referir que nesta observação *B. schmidtii* demonstrou efeito bactericida contra *Streptococcus gordonii*, não interferindo com outras bactérias pertencentes à flora normal da mucosa em questão. No que concerne esta questão, o extrato de *S. flavescens* (125 µg/mL) evidenciou os melhores resultados, inibindo o biofilme de *S. mutans* sem afetar nenhum dos *Streptococcus* residentes da mucosa oral.⁵⁹

Também na mucosa do trato urogenital foi evidenciada a atividade antibiofilme descrita pela bétula. Num ensaio clínico controlado e randomizado, levado a cabo com um grupo constituído por 83 doentes sob cateterização vesical há pelo menos três meses, não submetidos a qualquer tipo de tratamento oral ou parentérico, foi testada uma preparação composta por extratos de plantas utilizadas frequentemente no tratamento de patologias do sistema urinário.⁵ Este composto incluía *Solidago virgaurea* 135,8 mg, *B. pendula/B. pubescens* 108,9 mg, *Orthosiphon stamineus* 96,8 mg e *Vaccinum macrocarpon* 150 mg. Nas uroculturas realizadas antes de dar início à administração, verificou-se a presença de biofilmes nos cateteres urinários, compostos por diversos microrganismos, com a *E. coli* a constituir o mais isolado em ambos os grupos em estudo. Os resultados observados por Cai et al. apuraram a diminuição da formação dos biofilmes urinários constituídos por *E. coli*, *E. faecalis*, *Enterococcus faecium* e *P. aeruginosa*, bem como o decréscimo na prevalência de

uroculturas positivas nos doentes tratados com o preparado narrado. Os autores estimam que a combinação dos vários extratos utilizados permitiu amplificar o efeito que cada planta teria se fosse utilizada isoladamente, crendo que os seus componentes individuais contribuíram ativamente para os resultados obtidos.⁵

Wojnicz et al. investigaram também a influência de *B. pendula* sobre variadas estirpes integrantes de biofilmes de *E. coli* uropatogénica. Observou-se para todas as concentrações testadas do extrato da planta uma redução crescente do crescimento bacteriano (Tabela IX), assim como a inibição da aglutinação de hemácias, impeditiva da adesão tecidual, traduzindo a bétula como uma possível aposta terapêutica que poderá favorecer a inibição da reprodução de *E. coli* e dos biofilmes que constitui.⁵⁸

Tabela IX – Percentagem (%) de sobrevivência de *E. coli* após exposição a diferentes concentrações de *Betula pendula* (Adaptado de Wojnicz et al., 2012)

Concentração de <i>B. pendula</i> (mg/mL)							
0,125	0,25	0,5	1	5	10	15	20
51	48	45	36	27	13	10	6

Em contraste com as evidências relatadas até ao presente, um estudo demonstrou que o extrato de *B. pendula* induziu a formação de biofilmes ao reduzir a sua motilidade em cerca de 30 a 50%, estando na dependência de polifenóis. Isto poderá dever-se, na perspetiva dos autores, às concentrações utilizadas (2,5 µL/placa), inferiores àquelas descritas na investigação de Wojnicz et al., tendo evidenciado apenas um ligeiro efeito bacteriostático.⁴²

4.3.3.6. Efeitos adversos e precauções

Poderão ocorrer reações adversas à bétula que incluem sintomas gastrointestinais, como náuseas, vômitos e diarreia, e ainda reações alérgicas, que se manifestem com prurido, *rash*, urticária ou rinite, estando o seu uso contraindicado em casos de insuficiência renal ou cardíaca severa.^{45,47,60} A alergia à bétula é muito prevalente na Europa Central e do Norte e muitas vezes ocorre síndrome de alergia oral pela reatividade cruzada entre pólen e alimentos, nomeadamente a maçã.

Estão descritas interações farmacológicas associadas ao uso de diuréticos, pelo efeito acrescido que a bétula provoca. Não se recomenda a sua aplicação em menores de 12 anos nem grávidas, por falta de informação adequada.

4.3.4. *Geranium spp.*



Figura 7 – Gerânio (*Geranium spp.*)

[<https://pixabay.com/> (acesso livre sem *copyright*, acedido a 30/01/2019)]

4.3.4.1. Características

O género *Geranium*, pertencente à Família *Geraniaceae*, encontra-se distribuído pela Europa, América do Norte e cone sul-africano, englobando mais de 250 espécies de plantas com flor, com ciclos de vida anuais, bianuais e perenes, isto é, com duração superior a dois anos, que propiciam o seu crescimento até 60 cm de altura. Estas são comumente designadas de gerânios (Figura 7) e podemos encontrá-las em terrenos húmidos de regiões temperadas e montanhosas dos trópicos, estando maioritariamente presentes na zona leste do Mediterrâneo.^{28,47}

O seu uso é aplicado na perfumaria, através dos óleos essenciais aromáticos que possui e a planta em si é bastante utilizada para adornar jardins, pela beleza das suas flores.¹¹

4.3.4.2. Composição

Alguns dos compostos presentes em maior quantidade no gerânio incluem ácidos fenólicos como o ácido gálico, ácido clorogénico e ácido protocatecuico, taninos, de entre os quais geranina, numa percentagem que pode ir de 10% a 30% e ainda kaempferol, quercetina, hiperósido e rutina, que são flavonóides naturais.^{11,28,45}

4.3.4.3. Uso tradicional

O gerânio é muito utilizado na medicina tradicional para o alívio da febre, no tratamento de disfunções hepáticas e da vesícula biliar, litíase renal e na patologia gástrica inflamatória e hemorrágica, concretamente *Geranium robertianum* e *Geranium purpureum* (*G. purpureum*), nomeados frequentemente como Erva-de-São-Roberto, com distribuição conhecida em Portugal Continental e nas ilhas da Madeira e Porto Santo.^{11,45} O seu uso interno inclui-se também no alívio sintomático da diarreia e está ainda descrito que a mastigação das folhas frescas e até o seu cozimento ou a sua preparação como infusão podem ser úteis na lavagem bucal para alívio da mucosa oral inflamada. A aplicação tópica do gerânio poderá auxiliar na cicatrização de lesões superficiais.⁴⁵

Geranium maculatum (oriundo da América do Norte) tem ainda indicação descrita na medicina tradicional para o tratamento de úlceras gastrointestinais, patologia hemorroidária e ginecológica (nomeadamente metrorragias e dismenorreia), além de algumas das condições referidas anteriormente.⁴⁵

4.3.4.4. Regulamentação internacional

❖ European Medicines Agency⁴⁸

De momento, a EMA não tem monografia para este género botânico.

❖ Phytotherapeutic Monographs (BGA, Commission E, Germany)⁴⁹

O género *Geranium* não está incluído na Farmacopeia Alemã, Comissão E.

No entanto, *Pelargonium sidoides* da Família *Geraniaceae* tem monografia da EMA e está descrito na Comissão E, estando contemplado como um medicamento na forma de comprimidos e tinturas para processos infecciosos, sobretudo do trato respiratório.^{48,49}

4.3.4.5. Potencial terapêutico

Na sua maioria, todas as partes das plantas do género *Geranium* possuem qualidades medicinais, mas mais especificamente o rizoma e as folhas secas.

A literatura descreve atividade antiviral (em animais, contra o vírus da estomatite vesicular) e antimicrobiana, contra *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Os taninos, fortes componentes do gerânio, evidenciaram propriedades adstringentes, hemostáticas e tónicas, com capacidade para estimular a resposta imune do organismo.⁴⁵

4.3.4.5.1. Atividade antimicrobiana e antibiofilme

Também o gerânio tem sido testado quanto ao seu potencial antimicrobiano. A sua atividade poderá dever-se à presença de ácido gálico, um composto presente nas espécies de *Geranium* usado como padrão para a quantificação de fenóis, e de quercetina, um bioflavonoide, além de outros constituintes pertencentes a estas classes referidas.¹¹

Um estudo recente avaliou a atividade antibiofilme do extrato metanólico de *Geranium sibiricum* (*G. sibiricum*) e mais 36 plantas, usadas tradicionalmente para tratar infecções e doenças inflamatórias, avaliando o seu potencial de ação contra *S. mutans* e *C. albicans*, dois microrganismos frequentemente associados à formação de biofilmes responsáveis pela patogenia de infecções da mucosa oral.²⁸ Assim, Hyung-Na et al. determinaram que, na concentração de 1 mg/mL em meio de cultura líquido, *G. sibiricum* promoveu a inibição do crescimento destes microrganismos em 46% e 58%, respectivamente.

Foi também avaliada a composição das plantas em estudo, demonstrando-se que, no geral, os extratos de plantas constituídos maioritariamente por fenóis obtiveram os melhores resultados contra os gérmes em análise. Ou seja, além do gerânio, também a *Camellia japonica* (camélia, oriunda das florestas do sul do Japão) e *Thuja orientalis* (conhecida como tuia-da-china, nativa da China e Japão) demonstraram, na concentração descrita anteriormente, resultados significativos, com percentagens superiores relativas à inibição dos mesmos microrganismos, na ordem dos 76 a 93%. Ainda, as três plantas referidas obtiveram destaque com as MICs mais reduzidas, relativamente às restantes em estudo (Tabela X).²⁸

Tabela X – Atividade antibacteriana de extratos metanólicos de várias plantas, em meio líquido
(Adaptado de Choi et al., 2017)

Plantas	Microrganismos	Diâmetro da zona de inibição (mm)				MIC (mg/mL)
		Concentração do extrato (mg/disco)				
		0,1	0,5	1	2	
<i>Camellia japonica</i>	<i>S. mutans</i>	-	8	10	12	0,5
	<i>C. albicans</i>	-	9	10	14	0,5
<i>Geranium sibiricum</i>	<i>S. mutans</i>	-	10	13	15	0,5
	<i>C. albicans</i>	-	8	9	10	0,5
<i>Thuja orientalis</i>	<i>S. mutans</i>	8	10	12	13	0,1
	<i>C. albicans</i>	-	9	12	12	0,5

Num outro estudo levado a cabo com cinco plantas provenientes do Algarve, Portugal, demonstrou-se que o extrato etanólico de *G. purpureum* inibiu o crescimento de *Bacillus cereus*, *E. coli*, *E. faecalis* e *S. aureus*, com MICs reproduzidas na Tabela XI. Em conjunto com *G. purpureum*, também *Crataegus monogyna* (conhecida em Portugal como pilriteiro, da Família *Rosaceae*) evidenciou atividade contra *S. aureus* e *Listeria monocytogenes*, descrevendo as MICs mais baixas de entre as plantas alvo de análise e tendo-lhes sido atribuídos os melhores resultados em termos de potencial antimicrobiano.¹¹

Tabela XI – Atividade antibacteriana de vários extratos de plantas após 48h de exposição
(Adaptado de Nunes et al., 2017)

Plantas	Extratos	MIC (µg/mL)				
		<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>
<i>Crataegus monogyna</i>	Aquoso	X*	X	X	X	9830 ± 410
	Etanólico a 80%	X	X	X	5830 ± 410	5830 ± 410
	Etanólico	X	X	X	X	7830 ± 410
<i>Equisetum telmateia</i>	Etanólico	X	8000 ± 0	9670 ± 520	X	X
<i>Geranium purpureum</i>	Etanólico	10000 ± 0	9679 ± 0	9830 ± 410	X	8000 ± 0
<i>Lavandula stoechas</i>	Aquoso	9830 ± 410	X	X	X	9830 ± 410
	Etanólico a 80%	X	7000 ± 0	X	X	X
	Etanólico	7670 ± 520	X	X	X	X
<i>Mentha suaveolens</i>	Etanólico a 80%	X	8000 ± 630	X	X	8330 ± 520

*X: Não ocorreu inibição com a concentração máxima testada (10 000 µg/mL)

Nunes et al. mencionam que também o extrato de acetato de etilo de *G. purpureum* demonstrou, num estudo realizado em 2011, potente atividade antibacteriana.

Pensa-se que a ação antibiofilme do gerânio pode também interferir com fatores de virulência segregados pelas espécies microbianas, nomeadamente enzimáticos, tendo sido apurada para *G. sibiricum* uma atividade inibitória de cerca de 69% relativa à GTase produzida pelo *S. mutans*, com concentrações de 1 mg/mL.²⁸

4.3.4.6. Efeitos adversos e precauções

Não há registo da ocorrência de efeitos adversos na literatura, nem de contraindicações ou interações farmacológicas. Devido ao elevado conteúdo em taninos, os utilizadores poderão experienciar náuseas e vômitos.⁴⁵

4.3.5. *Punica granatum*

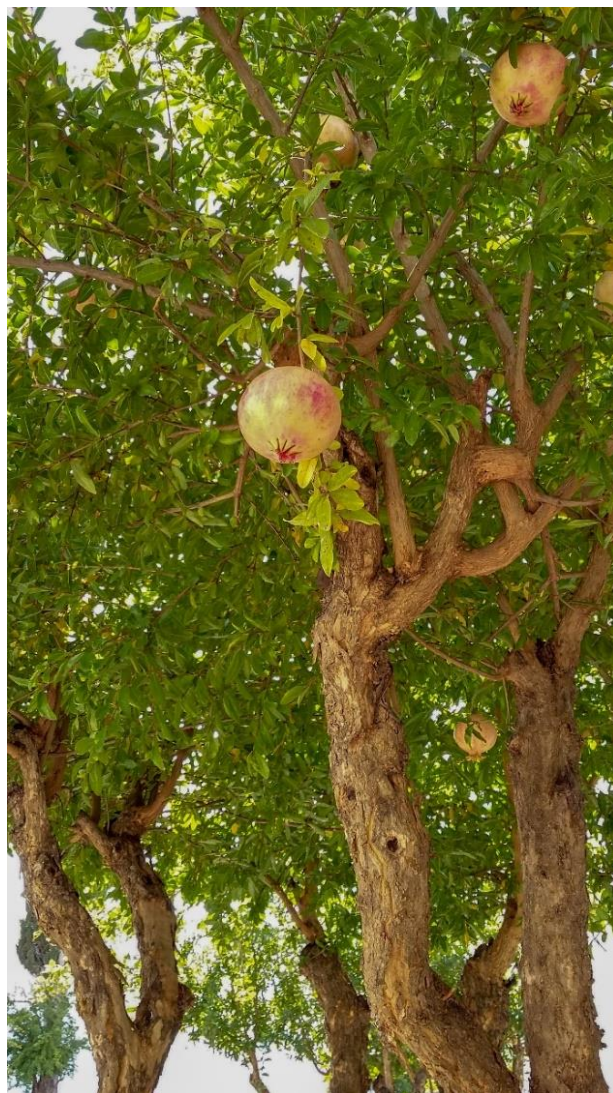


Figura 8 – Romãzeira (*Punica granatum*)

[Fotografia de Celso Pereira]

4.3.5.1. Características

Punica granatum (*P. granatum*) (Figura 8), vulgarmente conhecida como romãzeira, pertence à Família *Lythraceae* e consiste numa pequena árvore ruderal, oriunda da extensão que vai do Irão ao norte da Índia,³⁰ crescendo em regiões de climas quentes do sudeste da Ásia, Mediterrâneo, África do Sul, América e Austrália, além de outras partes do mundo.^{45,61}

A romãzeira pode atingir até 3 a 5 metros de altura. A sua casca é colhida no início do Outono, sendo retirada das raízes, tronco e ramos e seca ao ar livre, para posterior utilização. Possui flores vermelho-alaranjadas e a infrutescência (fruto) é esférica, com um diâmetro que varia até 12 cm e com sementes e polpas comestíveis no interior.⁴⁵

4.3.5.2. Composição

Dos compostos químicos que constituem a planta, destacam-se pela sua presença em maior quantidade os taninos e polifenóis, além de flavonóides, minerais e vitaminas.⁴⁰ Os galotaninos compõem cerca de 25% da casca das raízes, tronco e frutos, juntamente com ácido elágico e alcalóides piperidínicos, sendo que os elagitaninos são os principais componentes bioativos presentes nos frutos, incluindo punicalagina e punicalina.^{45,62}

4.3.5.3. Uso tradicional

P. granatum é utilizada na medicina tradicional para tratar vômitos, diarreia e infeções causadas por ténias e outros parasitas, sendo descrita também como abortiva e adstringente. Sugere-se que o seu uso externo confere vantagens na doença hemorroidária e na forma de solução gargarejada pode surtir alívio da odinofagia.^{45,47}

4.3.5.4. Regulamentação internacional

❖ European Medicines Agency⁴⁸

De momento, a EMA não tem monografia para esta espécie botânica.

❖ Phytotherapeutic Monographs (BGA, Commission E, Germany)⁴⁹

A espécie *P. granatum* não está incluída na Farmacopeia Alemã, Comissão E.

Ainda assim, destaca-se uma profusa utilização da romãzeira na medicina *Ayurvédica*, com múltiplos trabalhos realizados em centros de investigação de referência, traduzidos em publicações em revistas com *Impact Factor*.

4.3.5.5. Potencial terapêutico

As raízes, casca, frutos (incluindo o pericarpo) e flores descrevem propriedades medicinais anti-inflamatórias e antioxidantes, demonstradas pela punicalagina.^{45,62} Os flavonóides evidenciam efeitos antibacterianos pela inibição da atividade enzimática e ruptura da membrana citoplasmática, explorados em seguida.⁴⁰ Outra das propriedades farmacológicas que caracteriza os taninos é a adstringência,⁶¹ sendo que a literatura identifica também atividade analgésica, antipirética, antissética, amebicida, antifúngica, antiviral, hipoglicemiante, diurética, cardiotônica, abortiva e uterotônica, entre outras.⁴⁷

4.3.5.5.1. Atividade antimicrobiana e antibiofilme

Estudos *in vitro* comprovaram a atividade antifúngica de *P. granatum* contra *C. albicans*,^{37,38,62} possivelmente devida à punicalagina, o composto presente em maior quantidade nos extratos obtidos da casca da romã.³⁸

Mansourian et al. avaliaram 21 amostras obtidas da mucosa oral de doentes com estomatite induzida pelo fungo em questão, recorrendo à medição das zonas de inibição reproduzidas nos discos e tomando a ação da nistatina como meio de comparação. Como evidencia a Tabela XII, a romã reportou propriedades antifúngicas pouco importantes comparativamente ao agente referido. No entanto, os autores consideram que a baixa magnitude dos resultados poderá ser contrariada com concentrações superiores da planta em causa, com especial atenção para a possibilidade da manifestação de efeitos adversos.⁶²

Tabela XII - Atividade antifúngica de *Syzygium aromaticum* e *Punica granatum* contra *Candida albicans* (Adaptado de Mansourian et al., 2014)

Agentes	Amostras isoladas de doentes (n=21)*	Estirpes padrão (n=3)*	p
<i>Syzygium aromaticum</i>	29,62 ± 1,28	29,67 ± 0,58	0,87
<i>Punica granatum</i>	17,19 ± 1,44	16,67 ± 0,58	0,62
Nistatina	28,48 ± 1,17	28,67 ± 0,87	0,87

*Diâmetro da zona de inibição (mm)

Também num outro estudo *in vitro* a incorporação do extrato da planta na forma de micropartículas encapsuladas que permitem uma libertação controlada, evidenciou a ação de *P. granatum* tanto em células planctónicas como em biofilmes de *C. albicans*. Mais uma vez,

demonstrou estar aquém da nistatina, tendo, no entanto, potencial terapêutico superior ao do fluconazol (Tabela XIII).³⁷ A associação de punicalagina e fluconazol foi também avaliada por Endo et al., tendo determinado uma ação sinérgica contra *C. albicans in vitro*, com restrição do crescimento e viabilidade celular.³⁸

Tabela XIII - Atividade de *Punica granatum* e outros agentes antifúngicos contra células planctónicas e biofilmes de *Candida albicans* (Adaptado de Endo et al., 2012)

Agentes	MIC (µg/mL)		
	Células planctónicas	Biofilmes (48 h)	
		CV ₅₀ ^a	MTT ₅₀ ^b
Extrato de <i>P. granatum</i>	3,9	62,5	> 1000
Fluconazol	7,8	250	> 1000
Nistatina	3,1	7,8	31,2

^aCV₅₀: ensaio de Cristal Violeta; ^bMTT₅₀: ensaio colorimétrico do MTT

Descrita também como antibacteriana, a atividade da romãzeira tem sido validada por várias investigações científicas. Dabholkar et al. avaliaram a sua ação contra dois colonizadores da mucosa oral, *S. mutans* e *Streptococcus salivarius*, recorrendo a soluções bucais que continham *P. granatum* na sua composição, tendo evidenciado, para concentrações iguais ou superiores a 25 mL por 100 mL de solução, uma inibição das bactérias presentes nos biofilmes estimada entre 38% e 57%.⁴⁰

Os mesmos microrganismos, além de outros residentes na cavidade oral, foram estudados por Dastjerdi et al. com o objetivo de verificar o potencial do extrato aquoso desta planta medicinal na inibição de biofilmes bacterianos associados a aparelhos ortodônticos, tendo descrito a melhor atividade antibiofilme contra o *Streptococcus sanguinis* (*S. sanguinis*), com uma redução de 93,7% para a menor concentração utilizada, além de resultados muito positivos averiguados para outros *Streptococcus* (Tabela XIV). Os autores perspetivam que a romã possa atuar prevenindo a colonização iniciada pelo *S. sanguinis*, reduzindo, conseqüentemente, a maturação da placa dentária e a adesão de outros microrganismos cariogénicos e impedindo, desta forma, o desenvolvimento de biofilmes patogénicos.¹⁴

Tabela XIV - Percentagem (%) de inibição de biofilmes bacterianos associados a aparelhos ortodônticos produzida por várias concentrações do extrato aquoso de *Punica granatum* (Adaptado de Dastjerdi et al., 2014)

Microrganismos	Concentração (mg/mL)						
	50	25	12,50	6,25	3,12	1,56	0,78
<i>S. mutans</i>	84,4	84,4	77,2	66,4	-	-	-
<i>S. sanguinis</i>	-	-	-	100	100	100	93,7
<i>S. salivarius</i>	-	86,5	86,5	86,4	85,2	-	-
<i>S. sobrinus</i>	-	99,9	99,0	95,0	40,6	-	-
<i>E. faecalis</i>	56,3	55,2	35,5	35,5	-	-	-

Os fatores de virulência microbianos também constituem alvos de atuação das plantas medicinais analisados em diversos estudos. Avaliou-se a influência de extratos crus do pericarpo dos frutos de *P. granatum* constatando, para todas as concentrações testadas, variando de 1,56 a 6,35 mg/mL, a inibição de enzimas glicolíticas responsáveis pela produção de ácidos em *S. mutans* planctônicos, bem como a diminuição da produção de polissacarídeos extracelulares, não só nas bactérias em suspensão, como nos biofilmes.²⁷ Num outro estudo, os extratos aquosos de *P. granatum* e *Rhus coriaria* (oriunda da região Mediterrânea oriental, conhecida como sumagre) promoveram a supressão da transcrição genética de codificadores de *GTases* preponderantes na iniciação da formação de biofilmes de *S. mutans*,³⁰ sendo que em nenhum destes ensaios foi afetada a biologia celular da mucosa oral.

Gulube e Patel corroboraram ainda o potencial antibiofilme desta espécie, mantido às 6 e 24 horas de exposição ao extrato cru, com percentagens de inibição de *S. mutans* de 91% e 65%, respectivamente, sugerindo que a romã poderá conferir proteção a longo termo, sendo vantajosa a sua utilização matutina ou vespertina em soluções de lavagem bucal ou dentífricos, como forma de inibir a formação de placa dentária e, conseqüentemente, o desenvolvimento de biofilmes.^{27,30}

A atividade antibacteriana de *P. granatum* abrange ainda outros microrganismos *gram* positivos e negativos, descritos na Tabela XV, tendo sido a *Yersinia enterocolitica* o mais sensível ao extrato metanólico a 80%, contrariamente ao expectável pelos investigadores, uma vez que as bactérias *gram* negativas são descritas com resistência superior aos vários antimicrobianos relativamente às *gram* positivas.⁶¹

Tabela XV – Atividade antimicrobiana do extrato metanólico a 80% de *Punica granatum*
(Adaptado de Al-Zoreky et al., 2009)

Microrganismos	MIC (mg/mL)	
	Extrato metanólico a 80%	Ampicilina
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,5	< 0,001
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	< 0,001
MRSA	2	0,001
<i>Bacillus subtilis</i>	0,5	< 0,001
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	0,016
<i>Escherichia coli</i>	1	0,001
<i>Salmonella enteritidis</i>	4	0,002
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0,25	0,002

4.3.5.6. Efeitos adversos e precauções

Não estão descritas reações adversas nem interações associadas à planta em questão. No entanto, o conteúdo elevado de taninos pode propiciar sintomas de irritação gástrica, assim como o teor em alcaloides poderá induzir náuseas, vômitos, hematemeses, tonturas, alterações da visão e até falência respiratória para doses superiores a 80 gramas.^{45,47}

4.3.6. *Syzygium aromaticum*



Figura 9 – Cravinho (*Syzygium aromaticum*)

[Fotografia de Celso Pereira]

4.3.6.1. Características

O cravinho (Figura 9), como é comumente designada a espécie *Syzygium aromaticum* (*S. aromaticum*), pertence à Família *Myrtaceae* e tem origem nas ilhas Molucas, na Indonésia, sendo amplamente cultivado também na Índia, Sri Lanka, Madagáscar, Tanzânia, Brasil, entre outras regiões tropicais.⁴⁵

Constitui uma árvore de tamanho médio, que cresce entre os 8 e 12 metros e gera botões florais com odor e sabor característicos, que são utilizados há séculos como condimento na culinária, além do seu uso terapêutico, pela crença nas suas propriedades medicinais.^{45,63}

4.3.6.2. Composição

Esta planta medicinal constitui uma das principais fontes de fenóis, como sejam flavonóides ou derivados de ácidos hidroxibenzoico ou hidroxicinâmico.⁶³ Pinto et al. fizeram a análise qualitativa e quantitativa de *S. aromaticum*, demonstrando um total de 19 componentes, de entre os quais o eugenol constituía a maior percentagem (85,3%),⁶⁴ corroborada por outros autores.^{62,63,65}

Outros constituintes, além de hidratos de carbono, lípidos e vitaminas, incluem ácido gálico (o ácido presente em maior concentração), assim como os ácidos cafeico, elágico, ferúlico e salicílico.^{44,65}

Em menores concentrações, encontra-se também kaempferol, quercetina, taninos, sitosterol, campesterol e ácido oleanólico.^{44,45,65}

4.3.6.3. Uso tradicional

O uso do cravinho como medicamento está associado a cáries dentárias e doença periodontal, bem como asma e outras doenças alérgicas.⁶⁶ Está ainda descrito o seu consumo como antiemético e carminativo, útil para atenuar cólicas e flatulência, bem como para o tratamento de úlceras gástricas.⁴⁴

A sua aplicação tópica parece ser vantajosa como analgésico local ou antisséptico bucal e ainda no alívio sintomático de odontalgia, cefaleias e coriza.^{44,45}

4.3.6.4. Regulamentação internacional

❖ **European Medicines Agency**⁴⁸

- Committee on Herbal Medicinal Products
- Community herbal monograph on *Syzygium aromaticum* (L.) Merrill et L. M. Perry, *floris aetheroleum*

A monografia da EMA corrobora a utilidade dos botões florais do cravinho no tratamento sintomático da inflamação da orofaringe e na analgesia temporária da odontalgia provocada por cáries dentárias.

❖ **Phytotherapeutic Monographs (BGA, Commission E, Germany)**⁴⁹

A Comissão E valida a utilização do cravinho nas seguintes:

- Doença inflamatória da mucosa da orofaringe
- Anestésico tópico (na medicina dentária)

4.3.6.5. Potencial terapêutico

As propriedades medicinais de *S. aromaticum* estão descritas nos botões florais secos ou no óleo essencial deles extraído, bem como nos pedículos, folhas ou frutos não maduros.⁴⁵

É referida a sua ação analgésica e anestésica, bem como o seu potencial anti-inflamatório, antioxidante, antivírico, anti-histamínico e espasmolítico.^{44,63}

Atividade antissética moderada tem sido atribuída ao seu principal composto químico,⁴⁴ descrevendo-se também o seu potencial antimicrobiano contra diversos microrganismos,^{45,63} abordado em seguida.

4.3.6.5.1. Atividade antimicrobiana e antibiofilme

Há já muitas décadas que as propriedades antimicrobianas do cravinho são alvo de estudos científicos. Khan et al. testaram a atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos etanólicos de cinco plantas contra estirpes multirresistentes isoladas de infecções nosocomiais e adquiridas na comunidade. Os extratos de *Acacia nilotica*, *Cinnamomum zeylanicum* e *S. aromaticum* evidenciaram ação antimicrobiana mais pronunciada contra as estirpes em estudo (Tabela XVI).¹⁰

De modo geral, os microrganismos isolados de infecções hospitalares evidenciaram maior resistência às plantas em análise, relativamente aos que foram obtidos daquelas adquiridas na comunidade, corroborando o que descreve a literatura. No que diz respeito ao cravinho, o microrganismo mais sensível foi *C. albicans* (MIC: 156 µg/mL), seguido de *S. mutans* e *P. aeruginosa* (MIC: 390 µg/mL), *S. aureus* e *E. coli* (MIC: 780 µg/mL).¹⁰

S. aromaticum já havia demonstrado ação antifúngica contra *C. albicans* (na concentração de 100 mg/mL), superior à da nistatina e *P. granatum* (Tabela XII).⁶²

Num estudo português publicado por Pinto et al. o efeito fungicida do óleo essencial do cravinho e do seu principal constituinte, eugenol, foi igualmente observado contra os géneros *Candida* e *Aspergillus*, nomeadamente contra estirpes resistentes ao fluconazol, tendo revelado valores muito próximos, e por vezes concordantes, relativos às concentrações mínimas inibitórias e fungicidas.⁶⁴

Tabela XVI - Padrão de suscetibilidade de vários microrganismos aos extratos etanólicos de cinco plantas medicinais (Adaptado de Khan et al., 2009)

Microrganismos	Plantas medicinais				
	<i>A. nilotica</i> *	<i>T. arjuna</i> *	<i>E. globulus</i> *	<i>S. aromaticum</i> *	<i>C. zeylanicum</i> *
<i>S. mutans</i>	+++	+++	++	+++	+++
<i>S. aureus</i>	+++	+++	++	+++	+++
<i>E. faecalis</i>	++	++	+	++	+++
<i>S. bovis</i>	++	++	+	+++	+++
<i>P. aeruginosa</i>	+++	-	-	+++	+++
<i>S. typhimurium</i>	++++	-	-	+++	+++
<i>E. coli</i>	+++	-	-	++	++
<i>C. albicans</i>	+++	-	-	++++	++++
<i>K. pneumoniae</i>	++	-	-	+	++

*Diâmetro da zona de inibição: sem inibição (-), 5-15 mm (+), 16-25 mm (++), 26-35 mm (+++), > 40 mm (++++)

A análise por citometria de fluxo mostrou que o eugenol foi o fitoquímico responsável pela atividade antifúngica através da disrupção da parede celular e membrana citoplasmática, promovendo a permeabilização das diferentes camadas que as constituem e proporcionando posteriormente o desequilíbrio metabólico e a morte celular.⁶⁴ Um mecanismo de ação similar, referente ao eugenol, já havia sido reportado por Morán et al.⁶⁷

Ahmad et al. avaliaram o potencial antimicrobiano do cravinho *in vitro* e *in vivo*, concretamente no tratamento da candidíase vaginal em modelos animais, comparando a sua ação com a da nistatina, esta última cerca de quatro vezes mais eficaz. Não obstante, o cravinho evidenciou atividade antifúngica contra diversas estirpes, com a seguinte ordem de suscetibilidade: *Aspergillus fumigatus* > *C. albicans* > *C. neoformans*. Foram testadas várias vias de administração, com a aplicação tópica a demonstrar maior eficácia comparativamente à via subcutânea, proporcionando a eliminação completa da carga fúngica após 14 dias de tratamento.⁶⁸

Alguns dos metabolitos frequentemente encontrados na composição de plantas medicinais como os terpenos, flavonóides e outros fenóis/polifenóis foram estudados com vista a verificar a sua atuação na prevenção e tratamento de infeções cutâneas associadas a *Staphylococcus*

spp. Os resultados evidenciaram ação antimicrobiana subjacente a todos os fitoquímicos, com o eugenol e timol a demonstrar maior atividade contra as estirpes visadas (Tabela XVII).⁶⁷

Tabela XVII – Efeitos de vários metabolitos de plantas medicinais na viabilidade de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* (Adaptado de Morán et al., 2014)

Metabolitos	<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>	
	MIC ¹	SIC ²	MIC ¹	SIC ²
Timol	200	50	200	59
Carvacrol	> 2000	50	> 2000	5
Eugenol	100	50	100	50
Catequina	> 2000	2000	> 2000	2000
Genisteína	> 2000	500	> 2000	500
Ácido gálico	> 2000	1800	> 2000	> 2000
Ácido protocatecuico	> 2000	1500	> 2000	> 2000
Hidroquinona	> 2000	200	> 2000	200
Ácido para-hidroxibenzoico	> 2000	1000	> 2000	1500
Resveratrol	> 2000	500	> 2000	100

¹MIC: Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$)

²SIC: Concentração sub-inibitória ($\mu\text{g/mL}$)

Num outro ensaio, já havia sido comprovada a atividade antibacteriana do eugenol contra microrganismos cariogénicos, de entre os quais *S. mutans*, *S. sanguinis* e *Streptococcus sobrinus*, com MICs que variaram de 0,1 a 0,8 mg/mL. Verificou-se também um efeito sinérgico com a associação do composto com a ampicilina, reduzindo marcadamente, em quatro a oito vezes, as MICs das bactérias em questão.⁶⁹

A atividade antibiofilme do eugenol foi testada *in vitro* e em modelos de otite média (OM) *in vivo*, tendo demonstrado igual efetividade contra biofilmes de MRSA e de *Staphylococcus aureus* metilino-sensíveis (MSSA). Os resultados do estudo de Yadav et al. realçaram a capacidade deste fitoquímico destruir biofilmes pré-estabelecidos através de danos induzidos na membrana citoplasmática, impeditivos da adesão celular. Além disso, diminuiu a expressão genética de dois genes reguladores do desenvolvimento de biofilmes de *S. aureus* (*icaD* e *sarA*), conduzindo ao decréscimo na produção de polissacarídeos e enterotoxinas promotores da adesão bacteriana. Os mecanismos de ação do eugenol apurados neste estudo encontram-se representados na Figura 10.

À observação *in vivo*, este reduziu significativamente a colonização de *S. aureus* (mais de 80%) nos modelos com OM. Desta forma, os autores propõem o eugenol como uma alternativa aos antibióticos em formulação líquida que não atravessam eficazmente a membrana timpânica.⁹

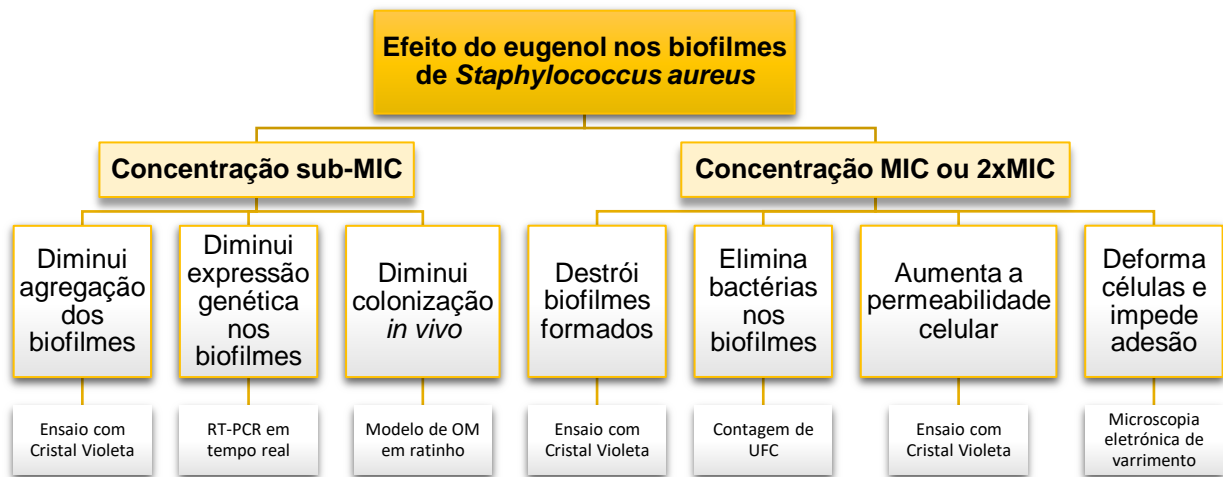


Figura 10 – Diagrama sistemático dos efeitos do eugenol nos biofilmes de *Staphylococcus aureus* (Adaptado de Yadav et al., 2015)

Extratos de *S. aromaticum* mostraram também interferir com moléculas sinalizadoras de *quorum sensing* na *P. aeruginosa*. Mais concretamente, o extrato metanólico inibiu a expressão de N-acil-homoserina lactonas nas concentrações testadas de 1, 2 e 3 mg/mL e o extrato de hexano reduziu significativamente a expressão do gene *lecA*, condicionando a atividade do fator de virulência por si regulado (*LecA*), sem, no entanto, afetar o crescimento das bactérias.⁶⁶

4.3.6.6. Efeitos adversos e precauções

O consumo de cravinho é geralmente reconhecido como seguro, estando contraindicado no caso de hipersensibilidade às substâncias ativas que o constituem.⁶⁵ Ainda assim, a OMS recomenda uma quantidade diária aceitável de 2,5 mg/kg.⁶³

O óleo essencial é descrito pela sua capacidade de provocar reações alérgicas e irritação das mucosas, característica atribuída ao eugenol, pelo que a aplicação tópica não diluída de forma continuada não está recomendada.^{45,65} Não estão reportadas interações farmacológicas, nem há evidência da sua utilização em grávidas e crianças, pelo que nestes casos deverá ser evitada.⁶⁵

4.3.7. *Urtica dioica*



Figura 11 – Urtiga-comum (*Urtica dioica*)

[<https://pixabay.com/> (acesso livre sem copyright, acedido a 30/01/2019)]

4.3.7.1. Características

Urtica dioica (*U. dioica*) (Figura 11), mais conhecida por urtiga-comum, urtiga-maior ou ortigão é uma planta herbácea pertencente à Família *Urticaceae* de floração perene, oriunda dos continentes europeu e asiático e amplamente distribuída nas regiões mais temperadas do planeta, com preferência por terrenos húmidos e frescos para o seu cultivo. Pode crescer entre os 60 e 150 cm em altura e as suas ervas constituem as partes aéreas frescas ou secas, colhidas na época de florescência.^{47,70,71}

A urtiga contém agentes histaminérgicos e altos teores de serotonina, produzindo uma sensação de ardor e que se relaciona com a origem do seu nome botânico, do latim *urere*, que significa “queimar”.⁷⁰

Cedo começou a ser utilizada pelo Homem, com as suas folhas, frutos e raízes a conferirem-lhe múltiplas aplicações que vão desde a culinária e preparação de infusões, pelo seu carácter aromatizante e nutritivo, assim como o fabrico de têxteis nas populações mais ancestrais, sem esquecer o seu vasto interesse terapêutico visado na medicina tradicional.^{70,71}

4.3.7.2. Composição

Esta espécie contém inúmeros fitoquímicos, de entre ácidos, aminas, flavonóides, lignanas e substâncias inorgânicas, que constituem potenciais fontes para a síntese de novos fármacos pelos múltiplos fenómenos que desencadeiam.⁷¹

As folhas são ricas em quercetina, rutina e kaempferol, abrangendo também fenilpropanóides como o ácido cafeico e ácido málico, bem como esteróis, carotenóides, taninos, nitratos e ainda vitaminas e minerais, como o cálcio e potássio, que podem perfazer até 20% do total dos constituintes.^{44,45,70}

Variados macronutrientes podem compor os frutos de *U. dioica*, nomeadamente proteínas, hidratos de carbono e até 30% de ácidos gordos. Os pelos urticantes da planta contêm ácido fórmico, histamina, serotonina, acetilcolina e leucotrienos, de entre outras substâncias químicas capazes de causar irritação.^{44,45,70}

O conteúdo químico das raízes e do rizoma é o mais estudado, contendo polissacarídeos acídicos, lectinas, beta-sitosterol, lignanas metabolizadas pela flora intestinal em componentes fitoestrogénicos, como as enterolactonas, e ainda triterpenos,^{44,45,70} além de outras substâncias químicas que se relacionam potencialmente com os efeitos fisiológicos desencadeados pela urtiga, com os fenóis e os terpenos a representar os grupos que mais se associam à inibição de infeções microbianas.^{7,71}

4.3.7.3. Uso tradicional

A urtiga é amplamente utilizada desde as civilizações mais antigas e as suas propriedades medicinais sugerem atividade diurética e anti-inflamatória, designando uma terapêutica adjuvante a considerar em patologia urinária.⁷⁰

Na medicina tradicional crê-se ainda nas suas vantagens como antidiabético e na contenção de hemorragias uterinas e epistáxis,⁴⁴ bem como no tratamento de artrite e prostatite.

Externamente, tem condicionado alívio de dores articulares ligeiras e melhorias na dermite seborreica e descamativa do couro cabeludo,^{44,45} com efeito na alopecia andrógena pelo seu efeito anti-androgénico.⁷⁰

4.3.7.4. Regulamentação internacional

❖ **European Medicines Agency**⁴⁸

- Committee on Herbal Medicinal Products
- Community herbal monograph on *Urtica dioica L.*, and *Urtica urens L.*, herba

A monografia da EMA descreve a utilidade da urtiga-comum no tratamento adjuvante de patologias *minor* do trato urinário, uma vez que estimula a diurese, bem como no alívio de artralguas. A sua aplicação é também referida na dermatite seborreica.

❖ **Phytotherapeutic Monographs (BGA, Commission E, Germany)**⁴⁹

A Comissão E valida a utilização da urtiga nas seguintes:

- Ervas e folhas da *U. dioica*
 - Tratamento de ITUs
 - Prevenção e tratamento da litíase renal
 - Terapêutica de suporte para doenças reumáticas
- Raiz da *U. dioica*
 - Tratamento sintomático da hiperplasia benigna da próstata (HBP)

4.3.7.5. Potencial terapêutico

Tanto as folhas secas como as raízes da urtiga lhe conferem propriedades medicinais, tendo demonstrado atividade anti-inflamatória com a inibição da síntese de leucotrienos, por parte de um ácido fenólico isolado do extrato em estudo.^{45,70} Além desta, a literatura descreve múltiplas ações farmacológicas desta espécie,^{44,45,47,70} nomeadamente analgésica e anestésica local, antissética, depurativa, diurética, hipotensiva, bradicardizante, hipoglicemiante, hemostática e pró-coagulante, expetorante, antiespasmódica, anticonvulsivante, miorrelaxante, adstringente e emenagoga. Demonstra ainda atividade antimicrobiana, concretamente fungicida e antibacteriana, fundamentada em seguida.

A presença de glicanos na sua composição define o seu potencial imunoestimulador⁴⁵ que, juntamente com os seus efeitos antioxidantes, corroborados cientificamente,⁷¹ e modeladores da inflamação, apoiam a utilização vantajosa da urtiga em múltiplas doenças inflamatórias.⁷⁰

Já foi demonstrada a sua atividade na HBP, possivelmente potenciada por lignanas que interferem com hormonas determinantes na fisiopatologia da doença,^{44,45} estando também documentada a sua ação depressora do sistema nervoso central em estudos com animais.⁴⁴

4.3.7.5.1. Atividade antimicrobiana e antibiofilme

Os extratos de *U. dioica* têm demonstrado possuir atividade antibacteriana contra diversos microrganismos gram positivos e gram negativos, tais como *S. aureus*, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhi* (*S. typhi*), *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli* e *E. faecalis*, tendo estes sido inibidos pelo extrato de hexano da urtiga, no estudo de Dar et al. com MICs de 31,25, 125, 7,81, 250, 31,25, 15,62 e 125 µg/mL, respetivamente. A aferição dos resultados fez-se recorrendo à medição das zonas de inibição do crescimento microbiano e está descrita na Tabela XVIII. Também o extrato de clorofórmio demonstrou atividade moderada, ainda que a sua ação não tenha abrangido todas as bactérias em análise.⁷

Tabela XVIII – Atividade antibacteriana de vários extratos obtidos das folhas de *Urtica dioica*
(Adaptado de Dar et al., 2012)

Microrganismos	Extratos*					
	Hexano	Clorofórmio	Acetado de etilo	Metanólico	Aquoso	Gentamicina
<i>S. aureus</i>	++	+	-	-	-	+++
<i>S. flexneri</i>	++	+	-	-	-	+++
<i>S. typhi</i>	++	+	-	-	-	+++
<i>P. aeruginosa</i>	++	-	-	-	-	+++
<i>K. pneumoniae</i>	++	+	-	-	-	+++
<i>E. coli</i>	++	+	-	-	-	+++
<i>E. faecalis</i>	++	-	-	-	-	+++

*Diâmetro da zona de inibição: ≤ 7 mm (-), ≤ 10mm (+), ≤ 15 mm (++) , > 15 mm (+++)

O extrato de acetato de etilo também demonstrou atividade antibacteriana contra algumas das estirpes referidas anteriormente, concretamente *S. aureus*, *S. typhi* e *E. coli*, entre outras, num estudo que comparou o potencial terapêutico de *U. dioica* e *Taraxacum officinale* (vulgarmente conhecido como dente-de-leão), tendo a primeira evidenciado os melhores resultados na concentração de 10 mg/mL.⁷¹

Contrariamente, num outro estudo, *U. dioica* demonstrou pouca efetividade na redução das estirpes bacterianas de *E. coli*, uma vez que, mesmo com a concentração máxima de 20,0 mg/mL, manteve uma viabilidade celular de 59%. No entanto, salienta-se que o teor de fitoconstituintes na planta depende muito do tempo de maturação e da idade da mesma, bem como dos locais de extração (folhas ou rizomas).

Além de avaliarem a inibição do crescimento microbiano, Wojnicz et al. focaram também a sua investigação na forma como os fatores de virulência produzidos pela *E. coli* precipitam a colonização de tecidos, tendo evidenciado que, à semelhança da bétula, também a urtiga promove a disfunção das fímbrias à superfície da bactéria, ação que se deve à sua forte composição em taninos que, ao se ligarem antecipadamente às fímbrias, vão impedir a adesão tecidual. A utilização de *U. dioica* em elevadas concentrações (15,0 e 20,0 mg/mL) promoveu ainda alterações relativas à superfície hidrofóbica da bactéria, tornando-a hidrofílica e impedindo desta forma a sua colonização, pensando-se que a utilização desta planta medicinal possa ser vantajosa na prevenção de infeções (ITUs, por exemplo).⁵⁸

Também o ácido cafeico, presente com elevado teor quer nas partes aéreas floridas quer nas raízes da urtiga, tem plena demonstração de eficácia antimicrobiana contra estirpes de *S. aureus* e *C. albicans*, com evidência de atividade inibitória da adesão celular, promovendo a eliminação de biofilmes. Estudos *in vitro* sustentam ainda que este ácido fenólico possa ter um efeito de sinergismo na sensibilização de estirpes resistentes ao fluconazol.⁷³⁻⁷⁵

O tratamento concomitante de antibióticos com plantas medicinais pode condicionar a suscetibilidade bacteriana à ação dos antimicrobianos, como foi avaliado por Samoilova et al., tendo verificado que, de todos os extratos em avaliação, apenas o de *U. dioica* (na concentração de 2,5 µL/placa) inibiu a formação de biofilmes de *E. coli* na ausência de antibioterapia. No entanto, a associação de algumas plantas com fármacos como a estreptomicina e cefotaxime, despoletou uma diminuição significativa da produção de biofilmes, nomeadamente com a utilização de *U. dioica*, *Achillea millefolium* e *Laminaria japonica* (uma alga), que potenciaram o efeito dos antibióticos em duas a cinco vezes, comparativamente à sua administração isolada. Os autores apuraram que estas espécies têm um conteúdo diminuto de polifenóis na sua constituição, sugerindo que possa ser essa a justificação para os resultados obtidos, uma vez que, em oposição, o tratamento com extratos ricos em polifenóis promoveu um aumento considerável dos biofilmes na presença de antibioterapia.⁴²

4.3.7.6. Efeitos adversos e precauções

Esta espécie descreve como possíveis reações adversas a ocorrência de náuseas, vômitos e diarreia (mais associadas ao consumo da raiz da urtiga),⁴⁷ ou ainda manifestações alérgicas que podem surgir com prurido, exantemas ou urticária.⁷²

O seu uso está contraindicado nos casos de hipersensibilidade ao princípio ativo, insuficiência renal ou doença cardíaca severa e não está comprovada a sua utilização em grávidas ou menores de 12 anos, devendo ser prevenida.^{47,72}

Quanto a interações farmacológicas, recomenda-se precaução na utilização conjunta de diclofenac (anti-inflamatório não esteróide) e *U. dioica*, uma vez que evidenciam ações antagônicas relativamente à coagulação sanguínea,⁴⁵ reiterando-se o mesmo cuidado no que diz respeito ao uso de anticoagulantes, bem como de outros fármacos com efeitos similares ou opostos aos descritos para a urtiga.⁴⁴ Estão ainda reportadas interações medicamentosas no tratamento concomitante com lítio (reduzindo a sua concentração por efeito diurético) e a potenciação de efeito farmacológico com os antidiabéticos orais e anti-hipertensores.

5. CONCLUSÃO

Ao longo dos anos, a evolução que concerne a medicina e a ciência tem promovido o interesse pelo desenvolvimento de novas modalidades terapêuticas cada vez mais eficazes e menos tóxicas. Não obstante, a emergência de microrganismos multirresistentes tem constituído um grande obstáculo para os profissionais de saúde no controlo de múltiplas patologias, nomeadamente doenças infecciosas associadas à presença de biofilmes, suscitando a procura urgente de substâncias alternativas ou novas associações farmacológicas que ultrapassem os problemas que advêm da resistência às terapias convencionais.

Desta forma, os métodos curativos mais antigos baseados na medicina tradicional, concretamente com recurso a plantas medicinais, têm sido revisitados, uma vez que estas descrevem diversas propriedades farmacológicas, além de se considerar o seu uso seguro e económico para a população em geral.

As plantas analisadas neste artigo de revisão revelaram-se promissoras para a inclusão de investigações futuras, tendo demonstrado potencial antimicrobiano contra diversos microrganismos implicados na etiologia de algumas infeções. Muitos agentes fitoterapêuticos demonstraram intervir na produção de fatores de virulência pelos biofilmes, além de promover a sua eliminação e a inibição do seu desenvolvimento em diferentes estádios, interferindo também com a expressão de alguns genes, assim como mecanismos de *quorum sensing*. Ainda assim, nem todos os ensaios são concordantes, acreditando-se que a atividade das plantas possa variar com os diferentes tipos de extratos e concentrações utilizados, dependendo também da qualidade e maturação das partes utilizadas das plantas, bem como das estirpes sob alvo terapêutico.

Sabe-se que a eliminação de biofilmes constitui um desafio crescente, pelo que se deverá apostar na prevenção da sua formação através da inibição da adesão celular e do seu desenvolvimento numa fase inicial.

De acordo com os resultados obtidos por algumas das espécies botânicas em estudo, a solução poderá residir no desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos com base nos extratos de plantas ou nos seus fitoquímicos, e ainda através da sua inclusão em terapias combinadas com fármacos convencionais, visando efeitos sinérgicos, com vista a potenciar a sua ação individual e aumentar a suscetibilidade microbiana ao tratamento.

Desta forma, os estudos referenciados neste artigo preconizam a utilização das plantas em análise com vista à erradicação ou redução de biofilmes de diversas estruturas mucosas. Concretamente, biofilmes da mucosa urogenital, comumente associados à *E. coli*, parecem ser suscetíveis ao tratamento com extratos provenientes da bétula ou urtiga, corroborando as

indicações descritas na regulamentação internacional. Esta última, devido ao seu elevado teor em ácido cafeico, poderá igualmente ter aplicação cutâneo-mucosa, assim como o cravinho, nomeadamente no tratamento de vulvovaginites e outras infeções na dependência de *C. albicans*. Também o alho se revelou eficaz na eliminação de biofilmes cutâneos maioritariamente associados a *S. aureus* e/ou *S. epidermidis*. Na mucosa do trato respiratório (particularmente nasal), biofilmes constituídos por *S. aureus* e/ou MRSA demonstraram elevada suscetibilidade à berberina, o principal fitoquímico que compõe a bérberis. Além desta, tanto o alho como o cravinho poderão constituir alternativas viáveis, com eficácia terapêutica nas infeções induzidas por *P. aeruginosa*, além de outros microrganismos. Na mucosa oral, todas as plantas em análise, à exceção da urtiga, têm evidência de propriedades antimicrobianas, particularmente na interação com *Streptococcus* cariogénicos (com destaque para o *S. mutans*) e *C. albicans*.

A atual investigação científica em ciências básicas com recurso a plantas medicinais corrobora o interesse na identificação de novas moléculas que sustentadamente possam contribuir para a resolução e minimização de um grave problema de saúde pública, resultante da resistência cada vez mais frequente aos agentes farmacológicos disponíveis.

Assim, o futuro das terapêuticas que concernem infeções associadas a biofilmes deverá implicar estudos científicos mais rigorosos acerca da patofisiologia destas comunidades, bem como dos mecanismos de ação e da atividade antimicrobiana desenvolvidos pelas plantas medicinais e pelos metabolitos que as compõem. Ensaio clínicos prospetivos, randomizados e controlados, incluindo populações alargadas, com vista à análise de diferentes dosagens e extratos de plantas, e atendendo à manifestação dos seus efeitos secundários, poderão corroborar os resultados descritos neste artigo e ajudar na compreensão do seu potencial uso clínico.

Crê-se que a janela de oportunidade à luz do conhecimento científico atual pode justificar a utilização de algumas plantas medicinais de forma racional e sustentada em situações muito específicas e selecionadas.

6. AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Celso Pereira e à Dr.^a Graça Loureiro, que prontamente se disponibilizaram a orientar o meu trabalho, expresso a minha gratidão. Deixo uma palavra de apreço ao meu orientador, cujo entusiasmo e vasta experiência no âmbito das plantas medicinais em muito valorizaram este artigo, tendo contribuído com valiosas sugestões e inúmeras palavras de incentivo. O meu muito obrigado pela sua generosidade.

À Tânia, por estar sempre comigo, diminuindo o valor da distância, pela preocupação constante, pelos longos desabafos e pelo dom de dizer sempre as palavras certas.

Ao Diogo, por partilharmos os mesmos sonhos, por ser um exemplo e uma inspiração, por nunca me deixar perder a esperança, motivando-me a querer ser melhor e fazendo-me acreditar que sou muito capaz.

Aos meus avós, que seguem atentamente os meus passos, orgulhosos das minhas conquistas, fazendo-me sentir “gigante”. Um obrigado do tamanho do seu coração.

Aos meus pais e irmã, o meu porto de abrigo, para os quais nenhum agradecimento será suficiente, por todo o apoio e amor incondicional, por serem verdadeiros “bombeiros” em momentos difíceis e por todos os valores que neles reconheço e que partilho orgulhosamente.

Por fim, a todos os que, mesmo não estando individualmente nomeados, têm contribuído para o meu crescimento a nível pessoal e para o meu sucesso académico.

.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lindsay D, von Holy A. Bacterial biofilms within the clinical setting: what healthcare professionals should know. *J Hosp Infect.* 2006;64(4):313–25.
2. Davey ME, O’toole GA. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2000;64(4):847–67.
3. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science.* 1999;284(5418):1318–22.
4. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis.* 2002;8(9):881–90.
5. Cai T, Caola I, Tessarolo F, Piccoli F, Elia CD, Caciagli P, et al. Solidago, orthosiphon, birch and cranberry extracts can decrease microbial colonization and biofilm development in indwelling urinary catheter: a microbiologic and ultrastructural pilot study. *World J Urol.* 2013;32(4):1007–14.
6. Hall-Stoodley L, Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol.* 2009;11(7):1034–43.
7. Dar SA, Ganai FA, Yousuf AR, Balkhi M, Bhat TM, Sharma P. Pharmacological and toxicological evaluation of *Urtica dioica*. *Pharm Biol.* 2013;51(2):170–80.
8. Mohsenipour Z, Hassanshahian M. The Effects of *Allium sativum* Extracts on Biofilm Formation and Activities of Six Pathogenic Bacteria. *Jundishapur J Microbiol.* 2015;8(8).
9. Yadav MK, Chae SW, Im GJ, Chung JW, Song JJ. Eugenol: A phyto-compound effective against methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* clinical strain biofilms. *PLoS One.* 2015;10(3):1–21.
10. Khan R, Islam B, Akram M, Shakil S, Ahmad A, Ali SM, et al. Antimicrobial activity of five herbal extracts against multi drug resistant (MDR) strains of bacteria and fungus of clinical origin. *Molecules.* 2009;14(2):586–97.
11. Nunes R, Pasko P, Tyszka-czochara M, Szlosarczyk M, Carvalho IS. Antibacterial, antioxidant and anti-proliferative properties and zinc content of five south Portugal herbs. *Pharm Biol.* 2017;55(1):114–23.
12. Kuldeep D, Ruchi T, Sandip C, Mani S, Amit K, K K, et al. Evidence based antibacterial potentials of medicinal plants and herbs countering bacterial pathogens especially in the era of emerging drug resistance: an integrated update. *Int J Pharmacol.* 2014;10(1):1–43.

13. Murray MT. Botanical Medicine—A Modern Perspective. In: Textbook of Natural Medicine. Elsevier; 2013. p. 255–60.
14. Vahid-Dastjerdi E, Abdolazimi Z, Ghazanfarian M, Amdjadi P, Kamalinejad M, Mahboubi A. Effect of Punica granatum L. flower water extract on five common oral bacteria and bacterial biofilm formation on orthodontic wire. Iran J Public Health. 2014;43(12):1688–94.
15. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-scott HM. Microbial biofilms. Annu Rev Microb. 1995;49:711–45.
16. Mah TC, Toole GAO. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. TRENDS Microbiol. 2001;9(1):34–9.
17. Agarwal A, Singh KP, Jain A. Medical significance and management of staphylococcal biofilm. Immunol Med Microbiol. 2010;58:147–60.
18. Anderson GG, Dodson KW, Hooton TM, Hultgren SJ. Intracellular bacterial communities of uropathogenic Escherichia coli in urinary tract pathogenesis. Trends Microbiol. 2004;12(9):424–30.
19. Delcaru C, Alexandru I, Podgoreanu P, Grosu M, Stavropoulos E, Chifiriuc M, et al. Microbial Biofilms in Urinary Tract Infections and Prostatitis: Etiology, Pathogenicity, and Combating strategies. Pathogens. 2016;5(4):65.
20. Lihua LIN, Jianhui W, Jialin YU, Yayin LI, Guanxin LIU. Effects of Allicin on the Formation of Pseudomonas aeruginosa Biofilm and the Production of Quorum-Sensing Controlled Virulence Factors. Polish J Microbiol. 2013;62(3):243–51.
21. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. Nat Rev Drug Discov. 2003;2(2):114–22.
22. Costerton JW, Stewart PS. Biofilms and device related infections. Persistent Bact Infect. 2000;423–39.
23. Mah T, Toole G. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. TRENDS Microbiol. 2001;9(1):34–9.
24. Zernotti ME, Villegas NA, Revol MR, Baena-Cagnani CE, Miranda JEA, Paredes ME, et al. Evidence of bacterial Biofilms in nasal polyposis. J Investig Allergol Clin Immunol. 2010;20(5):380–5.
25. Pirrone M, Pincirolì R, Berra L. Microbiome, biofilms, and pneumonia in the ICU. Curr Opin Infect Dis. 2016;29(2):160–6.

26. Boisvert AA, Cheng MP, Sheppard DC, Nguyen D. Microbial biofilms in pulmonary and critical care diseases. *Ann Am Thorac Soc.* 2016;13(9):1615–23.
27. Gulube Z, Patel M. Effect of *Punica granatum* on the virulence factors of cariogenic bacteria *Streptococcus mutans*. *Microb Pathog.* 2016;98:45–9.
28. Choi H, Cheong D, Lim H, Kim W, Ham M, Oh M, et al. Antimicrobial and Anti-Biofilm Activities of the Methanol Extracts of Medicinal Plants against Dental Pathogens *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *J Microbiol Biotechnol.* 2017;27(7):1242–8.
29. Jurczak A, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014;33(4):499–515.
30. Vahid-dastjerdi E, Monadi E, Reza H, Torshabi M. Down-Regulation of Glycosyl Transferase Genes in *Streptococcus Mutans* by *Punica Granatum L.* Flower and *Rhus Coriaria L.* Fruit Water Extracts. *Iran J Pharm Re.* 2016;15(2):513–9.
31. Yong RLX, Tan YDY, Li N. Potent in vitro synergism of fusidic acid (FA) and berberine chloride (BBR) against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *World J Microbiol Biotechnol.* 2014;30(11):2861–9.
32. Guo N, Zhao X, Li W, Shi C, Meng R, Liu Z, et al. The synergy of berberine chloride and totarol against *Staphylococcus aureus* grown in planktonic and biofilm cultures. *J Med Microbiol.* 2018;64(8):891–900.
33. Fastenberg JH, Hsueh WD, Mustafa A, Akbar NA, Abuzeid WM. Biofilms in chronic rhinosinusitis: Pathophysiology and therapeutic strategies. *World J Otorhinolaryngol - Head Neck Surg.* 2016;2(4):219–29.
34. Nidadavolu P, Amor W, Tran PL, Dertien J, Colmer-hamood JA, Hamood AN. Garlic ointment inhibits biofilm formation by bacterial pathogens from burn wounds. *J Med Microbiol.* 2012;61:662–71.
35. Scalise A, Bianchi A, Tartaglione C, Bolletta E, Pierangeli M, Torresetti M, et al. Microenvironment and microbiology of skin wounds: The role of bacterial biofilms and related factors. *Semin Vasc Surg.* 2015;28(3–4):151–9.
36. Sardi J, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida A, Mendes Giannini M. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *J Med Microbiol.* 2013;62:10–24.
37. Endo EH, Ueda-Nakamura T, Nakamura CV, Filho BPD. Activity of spray-dried

- microparticles containing pomegranate peel extract against *Candida albicans*. *Molecules*. 2012;17(9):10094–107.
38. Endo EH, Nakamura CV, Prado B, Filho D. Potent antifungal activity of extracts and pure compound isolated from pomegranate peels and synergism with fluconazole against *Candida albicans*. *Res Microbiol*. 2010;161(7):534–40.
 39. Cowan MM. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12(4):564–82.
 40. Dabholkar CS, Shah M, Kathariya R, Bajaj M, Doshi Y. Comparative evaluation of antimicrobial activity of pomegranate-containing mouthwash against oral-biofilm forming organisms: An invitro microbial study. *J Clin Diagnostic Res*. 2016;10(3):65–9.
 41. Taylor PW. Alternative natural sources for a new generation of antibacterial agents. *Int J Antimicrob Agents*. 2013;42(3):195–201.
 42. Samoilova Z, Muzyka N, Smirnova G. Medicinal plant extracts can variously modify biofilm formation in *Escherichia coli*. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2014;105(4):709–22.
 43. World Health Organization. WHO traditional medicine strategy: 2014-2023. World Health Organization, 2013. [disponível em <http://www.who.int/iris/handle/10665/92455>]
 44. Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD, editors. *Herbal Medicines*, 3rd Edition. London: Pharmaceutical Press; 2007.
 45. Gruenwald J, Brendler T, Jaenicke C, editors. *PDR for herbal medicine*, 2nd Edition. Montvale, New Jersey: Medical Economics Company; 2000.
 46. Murray MT. *Allium sativum* (Garlic). In: Pizzorno JE, Murray MT, editors. *Textbook of natural medicine*, 4th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Churchill Livingstone; 2013. p. 569-76.
 47. Duke JA, editor. *Handbook of Medicinal Herbs*, 2th Edition. New York, Florida: CRC Press LLC; 2002.
 48. Committee on Herbal Medicinal Products. European Medicines Agency [disponível em https://www.ema.europa.eu/en/medicines/field_ema_web_categories%253Aname_field/Herbal/field_ema_herb_outcome/european-union-herbal-monograph-254?sort=field_ema_public_date&order=asc]
 49. BGA, Commission E, Germany. *Phytotherapeutic Monographs* [disponível em <https://buecher.heilpflanzen-welt.de/BGA-Commission-E-Monographs/>]

50. Yousuf S, Ahmad A, Khan A, Manzoor N, Khan LA. Effect of garlic-derived allyl sulphides on morphogenesis and hydrolytic enzyme secretion in *Candida albicans*. *Med Mycol*. 2011;49(4):444–8.
51. Gull I, Saeed M, Shaukat H, Aslam SM, Samra ZQ, Athar AM. Inhibitory effect of *Allium sativum* and *Zingiber officinale* extracts on clinically important drug resistant pathogenic bacteria. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2012;11(1):1.
52. Mendoza-juache A, Aranda-romo S, Bermeo-escalona JR, Gómez-hernández A, Pozos-guillén A, Sánchez-vargas LO. The essential oil of *Allium sativum* as an alternative agent against *Candida* isolated from dental prostheses. *Rev Iberoam Micol*. 2017;34(3):158–64.
53. European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products. European Union herbal monograph on *Allium sativum* L., bulbus. London: European Medicines Agency; 2016. [disponível em <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/allii-sativi-bulbus>]
54. Anny R, Silva C, Freitas D, Stefany B, Dantas N, Sampaio LS, et al. Berberine Antifungal Activity in Fluconazole-Resistant Pathogenic Yeasts: Action Mechanism Evaluated by Flow Cytometry and Biofilm Growth Inhibition in *Candida* spp . *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(6):3551–7.
55. Dziedzic A, Wojtyczka RDW, Kubina R. Inhibition of oral streptococci growth induced by the complementary action of berberine chloride and antibacterial compounds. *Molecules*. 2015;20(8):13705–24.
56. Zuo G, Li Y, Han J, Wang G, Zhang Y, Bian Z. Antibacterial and Synergy of Berberines with Antibacterial Agents against Clinical Multi-Drug Resistant Isolates of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Molecules*. 2012;17(9):10322–30.
57. Dhamgaye S, Devaux F, Vandeputte P, Khandelwal NK, Sanglard D, Mukhopadhyay G, et al. Molecular mechanisms of action of herbal antifungal alkaloid berberine, in *Candida Albicans*. *PLoS One*. 2014;9(8).
58. Wojnicz D, Kucharska AZ, Soko A. Medicinal plants extracts affect virulence factors expression and biofilm formation by the uropathogenic *Escherichia coli*. *Urol Res*. 2012;40(6):683–97.
59. Lee S. Antimicrobial Effects of Herbal Extracts on *Streptococcus mutans* and Normal Oral Streptococci. *J Microbiol*. 2013;51(4):484–9.
60. European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products. European

- Union herbal monograph on *Betula pendula* Roth and/or *Betula pubescens* Ehrh. as well as hybrids of both species, folium. London: European Medicines Agency; 2014. [disponível em <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/betulae-folium>]
61. Al-Zoreky NS. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *Int J Food Microbiol.* 2009;134(3):244–8.
 62. Mansourian A, Boojarpour N, Ashnagar S, Beitollahi JM, Shamshiri AR. The comparative study of antifungal activity of *Syzygium aromaticum*, *Punica granatum* and nystatin on *Candida albicans*; an in vitro study. *J Mycol Med.* 2014;24(4):e163-168.
 63. Cortés-Rojas D, de Souza C, Oliveira W. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2014;4(2):90–6.
 64. Pinto E, Vale-Silva L, Cavaleiro C, Salgueiro L. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *J Med Microbiol.* 2009;58:1454–62.
 65. European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products. Community herbal monograph on *Syzygium aromaticum* (L.) Merrill et L. M. Perry, floris aetheroleum. London: European Medicines Agency; 2011. [disponível em <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/caryophyllii-floris-aetheroleum>]
 66. Krishnan T, Yin W, Chan K. Inhibition of quorum sensing-controlled virulence factor production in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 by Ayurveda spice clove (*Syzygium aromaticum*) bud extract. *Sensors.* 2012;12(4):4016–30.
 67. Morán A, Gutiérrez S, Martínez-Blanco H, Ferrero MA, Monteagudo-Mera A, Rodríguez-Aparicio LB. Non-toxic plant metabolites regulate *Staphylococcus* viability and biofilm formation: a natural therapeutic strategy useful in the treatment and prevention of skin infections. *Biofouling.* 2014;30(10):1175–82.
 68. Khan MA, Khan A. Antimicrobial activity of clove oil and its potential in the treatment of vaginal candidiasis. *J Drug Target.* 2005;13(10):555–61.
 69. Moon S, Kim H, Cha J. Synergistic effect between clove oil and its major compounds and antibiotics against oral bacteria. *Arch Oral Biol.* 2011;56(9):907–16.
 70. Yamell EL, Abascal K. *Urtica dioica* (Stinging Nettle). In: Pizzorno JE, Murray MT, editors. *Textbook of natural medicine*, 4th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Churchill Livingstone; 2013. p. 1063-7.
 71. Ghaima KK, Hashim NM, Ali SA. Antibacterial and antioxidant activities of ethyl acetate

- extract of nettle (*Urtica dioica*) and dandelion (*Taraxacum officinale*). *J Appl Pharm Sci*. 2013;3(05):96–9.
72. European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products. Community herbal monograph on *Urtica dioica* L. and *Urtica urens* L., herba. London: European Medicines Agency; 2008. [disponível em <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/urticae-herba>]
73. Dai L, Zang C, Tian S, Liu W, Tan S, Cai Z, et al. Design, synthesis, and evaluation of caffeic acid amides as synergists to sensitize fluconazole-resistant *Candida albicans* to fluconazole. *Bioorg Med Chem Lett*. 2015;25(1):34–7.
74. Vita D De, Friggeri L, Diodata F, Auria D, Pandolfi F, Piccoli F, et al. Activity of caffeic acid derivatives against *Candida albicans* biofilm. *Bioorg Med Chem Lett*. 2014;24(6):1502–5.
75. Stanciuc A, Gaspar A, Moldovan L, Saviuc C, Popa M, Măruțescu L. In vitro antimicrobial activity of Romanian medicinal plants hydroalcoholic extracts on planktonic and adhered cells. *Roum Arch Microbiol Immunol*. 2011;70(1):11–4.