



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS
CURSO DE FARMÁCIA

JÉSSICA PIOVESAN DE OLIVEIRA

**RISCO DE VIÉS DOS ESTUDOS *in vitro* SOBRE A EFICÁCIA E TOXICIDADE DA
PLANTA *Tetradenia riparia* E SEUS DERIVADOS**

Florianópolis, SC

2022

JÉSSICA PIOVESAN DE OLIVEIRA

**RISCO DE VIÉS DOS ESTUDOS *in vitro* SOBRE A EFICÁCIA E TOXICIDADE DA
PLANTA *Tetradenia riparia* E SEUS DERIVADOS**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia

Orientador(a): Prof.^a Dr.^a Izabel Galhardo Demarchi

Florianópolis, SC

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Oliveira , Jéssica Piovesan de

Risco de viés dos estudos in vitro sobre a eficácia e toxicidade da planta tetradenia riparia e seus derivados / Jéssica Piovesan de Oliveira ; orientadora, Izabel Galhardo Demarchi, 2022.

50 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Farmácia . 3. Risco de Viés . 4. Toxicidade. 5. Tetradenia riparia. I. Demarchi, Izabel Galhardo. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Farmácia. III. Título.

Jéssica Piovesan de Oliveira

**RISCO DE VIÉS DOS ESTUDOS *in vitro* SOBRE A EFICÁCIA E TOXICIDADE DA
PLANTA *Tetradenia riparia* E SEUS DERIVADOS**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de "Farmacêutica" e aprovado em sua forma final pelo Curso de Farmácia.

Florianópolis, 13 de dezembro de 2022.

Prof^a. Dra. Liliete Canes de Souza
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Prof^a. Dra. Izabel Galhardo Demarchi
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a. Dra. Beatriz Garcia Mendes Borba
Avaliadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a. Dra. Daniele Stefanie Sara Lopes Lera
Avaliadora
Universidade Estadual de Maringá

Florianópolis, 2022.

Dedico este trabalho para minha família que foram os pilares da minha formação, os maiores incentivadores da minha grande realização. Agradeço do fundo do meu coração!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e por ter me proporcionado ter chegado até aqui.

Um agradecimento especial para toda a minha família, não tenho palavras para expressar o quanto sou grata por ter vocês, como pilares da minha formação em especial a minha mãe Marinêz e meu pai Alaor que sempre foram exemplos vivos de força e determinação, dando seu mais sincero amor incondicional, orações feitas em cada prova e trabalho apresentado, me dando todo o apoio nas horas das conquistas e também nas horas em que estive triste, sempre disseram para eu não desistir dos meus sonhos pois eles iriam se tornar realidade.

Ao meu irmão Jonas por ter sempre esteve ao meu lado, me ouvindo e me ajudando no que ele podia e me dando apoio.

Esse trabalho é a prova de que os esforços deles pela minha educação não foram em vão e valeram a pena.

Ao meu namorado Robert que em todo esse tempo, sempre foi uma pessoa de luz na minha vida, sendo compreensivo, me dando palavras de conforto, sempre me incentivando e estando ao meu lado em todos os momentos de tristeza e felicidade. Obrigada, meu amor, por suportar as crises de estresse e minha ausência em diversos momentos.

À minha tia, que considero como minha segunda mãe, mesmo morando longe sempre me atendeu quando eu estava triste e queria conversar, sempre foi a pessoa que me deu palavras de conforto e também compartilhou comigo meus momentos de alegria.

À minha amiga Anne que a UFSC me deu de presente que foi uma das pessoas mais especiais que poderia ter conhecido na graduação, se tornou a minha amiga do peito e também compartilhamos momentos de muita alegria, muitos almoços e também o famoso cafezinho depois do almoço, nossos surtos em algumas matérias, porém agradeço a ti, por todos esses anos ao meu lado me dando apoio durante a graduação.

Aos meus amigos de graduação Liamara, Gustavo, Jainara, que sempre estiveram ao meu lado, pela amizade incondicional e pelo apoio dado ao longo desta trajetória.

Gostaria de expressar aqui a minha enorme e sincera gratidão pela minha orientadora Prof.^a Dr^a Izabel Galhardo Demarchi, por ter me aceito, me dado todo apoio contínuo, muita paciência em me explicar e me passar todo o conhecimento de forma tão clara e tão leve. Eu não poderia ter imaginado na minha vida ter uma pessoa tão inspiradora para o meu trabalho, deixo aqui a minha eterna gratidão.

Agradeço imensamente a minha banca também que foi essencial para minha formação, a professora Dr^a Beatriz Garcia Mendes Borba também para a Prof.^a Dr.^a Daniele Lera Nonose que contribuíram muito para o meu trabalho.

A todos os meus professores do curso de Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina pela excelência da qualidade técnica de cada um.

“A vida não é fácil para nenhum de nós. Mas e daí? Nós devemos ter persistência e, acima de tudo, confiança em nós mesmos. Devemos acreditar que somos talentosos em alguma coisa, e que essa coisa, a qualquer custo, deve ser alcançada.”

(Marie Curie)

RESUMO

Muitos estudos *in vitro* têm investigado o potencial antimicrobiano da planta *Tetradenia riparia*. No entanto, a qualidade metodológica das pesquisas é de suma importância para a qualidade da evidência científica e recomendação do uso e experimentação em animais de novas substâncias. Neste estudo, o objetivo foi avaliar o risco de viés dos estudos *in vitro* que investigaram efeitos antimicrobianos e citotóxicos da planta *Tetradenia riparia* e seus derivados. Este estudo faz parte da revisão sistemática com protocolo registrado no PROSPERO (CRD42022309734). A revisão seguiu as recomendações do PRISMA. Os estudos foram selecionados a partir da busca em cinco bases de dados, utilizando a estratégia PICOS. Após aplicação dos critérios de elegibilidade (inclusão e exclusão), as variáveis foram extraídas para uma tabela padronizada. Até o presente momento, um total de 18 estudos foram incluídos na revisão. A análise do risco de viés foi realizada por dois revisores cegados utilizando lista de itens de verificação de qualidade metodológica e de relatório do SciRAP (Science in Risk Assessment and Policy) *in vitro* tool. Resultados: A maioria dos estudos apresentaram baixo risco de viés (12/18, 66,6%) para relatório, e sete estudos (33,4%) apresentaram risco de viés moderado. As principais questões envolvidas foram com sistema teste, citotoxicidade e conflito de interesse. Em relação a qualidade metodológica, a maioria das pesquisas também apresentou baixo risco de viés (14/18, 77,7%), e cinco estudos moderados (22,2%). As principais questões com problemas foram sistema testado, coleta e análise de dados relacionados a citotoxicidade. A maioria dos estudos foi considerada confiável com algumas restrições. Neste estudo, podemos concluir que os estudos *in vitro* sobre eficácia antimicrobiana da planta *Tetradenia riparia* são confiáveis, com restrição maior quanto aos testes de citotoxicidade. No GRADE, recomendamos a redução de um nível de evidência no item risco de viés. Destacamos que esse desfecho precisa ser melhor investigado em estudos pré-clínicos antes de estudo em seres humanos.

Palavras-chave: *Tetradenia riparia*. Revisão sistemática. Risco de viés. Antimicrobiano.

ABSTRACT

Many *in vitro* studies have investigated the antimicrobial potential of the *Tetradenia riparia* plant. However, the methodological quality of research is of paramount importance for the quality of scientific evidence and recommendation for the use and experimentation on animals of new substances. In this study, the objective was to evaluate the risk of bias of *in vitro* studies that investigated antimicrobial and cytotoxic effects of the *Tetradenia riparia* plant and its derivatives. This study is part of a systematic review with a protocol registered in PROSPERO (CRD42022309734). The review followed the PRISMA recommendations. The studies were selected from the search in five databases, using the PICOS strategy. After applying the eligibility criteria (inclusion and exclusion), the variables were extracted into a standardized table. To date, a total of 18 studies have been included in the review. Risk of bias analysis was performed by two blinded reviewers using the methodological and report quality checklist of the SciRAP (Science in Risk Assessment and Policy) *in vitro* tool. Results: Most studies were at low risk of bias (12/18, 66,6%) for reporting, and seven studies (33,4%) were at moderate risk of bias. The main issues involved were the test system, cytotoxicity and conflict of interest. Regarding methodological quality, most studies also showed a low risk of bias (14/18, 77,7%), and five moderate studies (22,2%). The main issues with problems were tested system, collection and analysis of data related to cytotoxicity. A total of 75% of the studies were considered reliable with some restrictions. In this study, we can conclude that *in vitro* studies on the antimicrobial efficacy of the *Tetradenia riparia* plant are reliable, with greater restriction on cytotoxicity tests. In GRADE, we recommend reducing one level of evidence in the risk of bias item. We emphasize that this outcome needs to be better investigated in preclinical studies before studies in humans.

Keywords: *Tetradenia riparia*. Systematic review. Antimicrobial. Toxicity

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	JUSTIFICATIVA	19
3	OBJETIVO	21
3.1	OBJETIVO GERAL	21
3.2	OBJETIVO ESPECÍFICOS	21
4	METODOLOGIA	22
4.1	AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS.....	25
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO	29
5.1.1	<i>Óleos essenciais</i>	30
5.1.2	<i>Extratos</i>	33
5.1.3	<i>Isolados</i>	35
5.1.4	<i>Frações</i>	36
5.2	VIÉS DE RELATÓRIO	36
5.3	VIÉS DE QUALIDADE METODOLÓGICA	39
5.4	CONFIABILIDADE	43
6	FINANCIAMENTO	46
7	CONCLUSÃO	47

1 INTRODUÇÃO

A planta *Tetradenia riparia* (Hochst) Codd (Figura 1), também conhecida como *Iboza riparia* ou *Moschoma riparium* pertence à família Lamiaceae, originária da África e foi incorporada no Brasil como planta ornamental, podendo ser plantada em jardins caseiros e encontradas em parques (GAZIM *et al.*, 2010; MARTINS; CAVALHEIRO, 2008). É uma planta bastante arbustiva e pode atrair diversos insetos polinizadores por conta do aroma que exala. Esta planta é conhecida popularmente como falsa mirra ou também pau de incenso (sândalo) (ARAÚJO, 2014).

Figura 1. Planta *Tetradenia riparia* no jardim medicinal da Universidade Paranaense. Umuarama, Paraná, Brasil. (A): folhas (B): Botões florais (C): Flores abertas.



Fonte: Sujogya et al. 2022.

Na literatura, existem estudos sobre o potencial farmacológico desta planta para o tratamento da malária, angina, doenças de pele, gastroenterites, gonorréia, diarreia, abscessos dentários, dor de cabeça, bronquite, tosse, úlceras, infertilidade feminina, doença renal, febre, dentre outros (VAN PUYVELDE *et al.*, 1986). O potencial antimicrobiano e citotóxico da *T. riparia* (*Tetradenia riparia*) e seus derivados têm sido investigados *in vitro* e *in vivo*, e tem-se observado efeitos em infecções causadas por *Leishmania* (DEMARCHI *et al.*, 2015a; CARDOSO *et al.*, 2015; DEMARCHI *et al.*, 2016; TERRON-MONICH *et al.*, 2019), helmintos (VAN PUYVELDE *et al.*, 2018), bactérias (tuberculose e outras doenças respiratórias) (GAZIM *et al.*, 2010; BALDIN *et al.*, 2018; MELO *et al.*, 2015), e fungos (ENDO *et al.*, 2018;

KAKANDE *et al.* 2019). A maioria dos estudos *in vitro* e *in vivo* investiga o potencial antimicrobiano de óleos essenciais extraídos das folhas da planta em estudo *T. riparia* (tricomas glandulares) uma vez que esses contêm uma grande quantidade de terpenos, tais como, monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos. Desta forma a concentração do óleo essencial pode variar de acordo com a estação do ano que foi colhida (GAZIM *et al.*, 2010; DEMARCHI *et al.*, 2015 a, 2016).

Diante dos inúmeros estudos publicados na literatura, torna-se fundamental a avaliação do nível da evidência pré-clínica da eficácia desta planta e seu perfil toxicológico, antes da recomendação para estudos em seres humanos. A síntese da informação com análise crítica da qualidade dos estudos é de extrema importância, e para isso, a revisão sistemática (RS) é um método de pesquisa científica que reúne estudos primários na literatura. A partir deste tipo de estudo, pretende-se responder a uma pergunta científica específica e refinada sobre um tema, com parecer crítico sobre a estimativa do efeito e qualidade metodológica dos estudos incluídos na revisão (CANTO *et al.*, 2020). As revisões sistemáticas são estudos secundários que estão no mais alto nível da evidência, sendo utilizadas a formulação de políticas públicas de saúde, notas técnicas e recomendações em saúde (BRASIL, 2014). Além disso, as RSs de estudos *in vitro* e *in vivo* podem indicar a necessidade ou não de mais experimentações sobre o tema, contribuindo com a estratégia “3R”: *replacement* (substituição), *reducement* (redução) e *refinement* (refinamento), que contribuem para o uso racional e ético de modelos animais (TANNENBAUM, 2015).

Percebe-se com isso que existe uma preocupação e compromisso com a ética na experimentação animal e também nos insumos de pesquisa *in vitro* também, que geram gastos, por isso os pesquisadores devem assegurar as experimentações a fim de obter as melhores evidências. Os estudos *in vitro* tem sido de grande importância pois em contra partida aos estudos *in vivo*, possuem menos gastos desnecessários com animais, são estudos alternativos envolvendo células que prediz a metabolização no ser vivo. Isso possibilita modificações, inclusive pesquisas mais avançadas levando em consideração o conselho ético.

Os desenhos de um projeto de experimentação e demais etapas do processo de pesquisa muitas vezes são enviesados sendo eles: viés de seleção, detecção, relato e outros, comprometendo a qualidade e evidência do estudo. Ainda, podem implicar na falta de confiabilidade nos resultados e conseqüentemente afetar o uso

racional dos animais e da intervenção. Uma pesquisa quando bem desenhada e definida, permite a reprodutibilidade dos resultados, diminui os custos, elimina vieses e permite um uso mais apropriado dos modelos animais (AGUILAR NASCIMENTO, 2005).

2 JUSTIFICATIVA

As pesquisas sobre eficácia e segurança de plantas medicinais são cada vez mais realizadas na área farmacêutica devido ao seu baixo custo, fácil disponibilidade e excelentes resultados no isolamento de substâncias de interesse para a saúde humana e animal (BALENTINE *et al.*, 1999; GULDIKEN *et al.*, 2018). Pesquisadores do Brasil, China e Índia investigaram o potencial farmacológico da planta *T. riparia* para o tratamento de doenças infecciosas e sua toxicidade. Esses são os principais países onde a planta é amplamente utilizada para fins medicinais (tratamento de infecções), estéticos (perfumes e cosméticos) ou ornamentais.

A liberação de um fármaco ou produto para uso e comercialização requer a autorização de órgãos governamentais nos países, como a aprovação pelo *Food and Drug Administration* (FDA, dos Estados Unidos) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, Brasil). Tanto no meio industrial como nas instituições acadêmicas ou nos locais de saúde, as decisões de escolha de regimes para controlar fatos de saúde, são baseados em critérios clínicos e também pré-clínicos. E para isso, as RS facilitam a tradução de evidências desses estudos (HOOIJMANS *et al.*, 2014). Para que a revisão tenha força na recomendação, é necessária a avaliação do risco de viés dos estudos incluídos. Para isso, as ferramentas desenvolvidas para avaliar o risco de viés e o nível de evidência das revisões sistemáticas, como SYRCLE e o GRADE, respectivamente, têm sido amplamente utilizadas nas revisões de estudos pré-clínicos (HOOIJMANS *et al.*, 2014; SCHUNEMANN *et al.*, 2013).

Os vieses em estudos científicos são resultados de erros sistemáticos que ocorrem no desenvolvimento ou direção ou análise estatística de um estudo, podendo levar a uma interpretação errada do significado do resultado. Um erro sistemático pode afetar a validade do estudo, como falhas na realização do método, coleta de dados e até a escolha dos participantes do estudo (HIGGINS *et al.*, 2021).

Para estudos pré-clínicos, estas ferramentas ainda estão em desenvolvimento e sendo aplicadas nas RS (OHAT, 2015; ROONEY, *et al.*, 2014). Algumas estratégias que realizam a avaliação do risco de viés em estudos pré-clínicos são instrumentos embasados nas diretrizes para estudos em seres humanos da Cochrane (HIGGINS *et al.*, 2011 e 2021). Por exemplo, a ferramenta SYRCLE (SYstematic Review Center for Laboratory animal Experimentation, HOOIJMANS *et al.*, 2014) foi desenvolvida por pesquisadores para avaliar o risco dos estudos pré-clínicos quanto à qualidade

metodológica. E para a analisar o nível de evidências desses estudos, tem sido aplicado o GRADE (Recommendations, Assessment, Development and Evaluation, SCHUNEMANN *et al.*, 2013).

O sistema GRADE (*Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation*) vai permitir que haja uma análise do nível de evidência classificada em quatro categorias: muito baixa, baixa, moderada e alta. Para a revisão, é necessário levar em consideração o risco de viés dos estudos agrupados na revisão, resultados inconsistentes, evidências indiretas, viés de publicação, e outros (conflitos de interesse, magnitude do efeito). Quanto mais alto o nível da evidência, maior a probabilidade do efeito estimado ser o real e não requer mais estudos a fim de responder a pergunta científica. Atualmente, a avaliação do nível de evidência para RS em estudos pré-clínicos tem sido amplamente recomendada (HIGGINS *et al.*, 2021).

3 OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o risco de viés dos estudos *in vitro* que investigaram a eficácia antimicrobiana da planta *Tetradenia riparia* e derivados.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar o risco de viés de qualidade metodológica dos estudos individuais *in vitro*;
- b) Verificar o risco de viés de relatório dos estudos;
- c) Analisar o impacto do viés dos estudos no nível da evidência GRADE.

4 METODOLOGIA

Esse projeto foi desenvolvido para realizar a análise do risco de viés dos estudos individuais juntamente com os resultados dos estudos sobre a planta *Tetradenia riparia* e seus derivados com potencial antimicrobiano e seu perfil toxicológico. Esse estudo faz parte da revisão sistemática que em partes foi realizada pela acadêmica de farmácia Yasmim Dalsenter do Curso de Farmácia da UFSC, também sob orientação da Professora Dra. Izabel Galhardo Dermarchi. A revisão sistemática está sendo realizada de acordo com as recomendações SYRCLE-CAMARADE e a declaração PRISMA (Itens de Relatório Preferidos para Revisões Sistemáticas e Meta-Análises; do inglês Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) (MOHER *et al.*, 2009; PAGE *et al.*, 2021). O protocolo deste estudo foi registrado na plataforma PROSPERO (Registro Prospectivo Internacional de Revisões Sistemáticas; do inglês International Prospective Register of Systematic Reviews; Reino Unido, registro CRD42022309734).

A pergunta de pesquisa “quais os efeitos antimicrobianos e de toxicidade da planta *Tetradenia riparia* e seus derivados *in vitro* e *in vivo*?” foi definida de acordo com a estratégia PICOS (população, intervenção, comparação, desfecho, design do estudo; do inglês, Population, Intervention, Comparison, Outcomes and Study Design) (HIGGINS *et al.*, 2011) (Tabela 1 adaptado do TCC de Yasmim Dalsenter, UFSC, Curso de Farmácia, 2022).

Tabela 1 – Estratégia PICOS e pergunta científica.

PICOS	Critérios de Inclusão	Critérios de Exclusão
População	<i>In vitro</i> : protozoários, bactérias, vírus, fungos, helmintos E células de mamíferos (de qualquer tipo, bem como células co-cultivadas). <i>In vivo</i> : mamíferos infectados por patógenos (protozoários, bactérias, vírus, fungos, helmintos), de qualquer gênero, idade e peso.	<i>In vitro</i> : células não-mamíferas, não infectadas por patógenos (protozoários, bactérias, vírus, fungos, helmintos), coinfeções. <i>In sílica</i> <i>In vivo</i> : estudos em não-mamíferos, modelos não-infecciosos; animais com coinfeções ou comorbidades; estudos em humanos.
Intervenção	<i>In vitro</i> : qualquer intervenção utilizando a planta <i>T. riparia</i> ou seus derivados (como extratos brutos e fracionados, óleo essencial,	<i>In vitro</i> : não testou <i>T. riparia</i> ou seus derivados.

	<p>compostos isolados e outros, combinados ou não com outras substâncias). Qualquer dose, tempo ou frequência.</p> <p><i>In vivo</i>: qualquer intervenção utilizando a planta <i>T. riparia</i> ou seus derivados (como extratos brutos e fracionados, óleo essencial, compostos isolados e outros, combinados ou não com outras substâncias). Qualquer dose, tempo ou frequência.</p>	<p><i>In vivo</i>: não testou <i>T. riparia</i> ou seus derivados.</p>
Comparação	<p><i>In vitro</i>: células sem tratamento (de mamíferos e patógenos), e células não infectadas, sem patógenos relatados, ou tratadas com fármacos de referência, agentes antimicrobianos ou veículos.</p> <p><i>In vivo</i>: mamíferos sem tratamento, não infectados, ou tratados com fármacos de referência, agentes antimicrobianos, veículos ou placebo.</p>	<p><i>In vitro</i>: sem a presença de grupos controle de acordo com o citado (células sem tratamento de mamíferos/patógenos, e células não infectadas, sem patógenos relatados, ou tratadas com fármacos de referência, agentes antimicrobianos ou veículos).</p> <p><i>In vivo</i>: sem a presença de grupos controle de acordo com o citado (mamíferos sem tratamento, não infectados, ou tratados com fármacos de referência, agentes antimicrobianos, veículos ou placebo).</p>
Desfecho	<p><i>In vitro</i>:</p> <p>PRIMÁRIO: atividade antimicrobiana (dose letal, concentração inibitória),</p> <p>SECUNDÁRIO: citotoxicidade. Todas as unidades são elegíveis.</p> <p><i>In vivo</i>: efeitos antimicrobianos (carga de patógeno [carga viral, carga parasitária, carga fúngica e outras]), SECUNDÁRIO e toxicidade (efeitos adversos, biópsia, histológicos)</p>	<p>Quaisquer desfechos que não mostrem resultados de atividade antimicrobiana ou toxicidade, como farmacocinética e farmacodinâmica.</p>
Design do estudo	<p>Estudos experimentais com grupo controle separado: estudos <i>in vitro</i> (fungos, vírus, bactérias, protozoários) e <i>in vivo</i> (modelos de mamíferos, com grupo controle separado). Estudos originais.</p>	<p>Para ambos os modelos: tipo de publicação (ensaios clínicos, revisões, diretrizes, cartas, editoriais, comentários, correspondências, notícias, resumos de conferências, teses e dissertações, relatos de caso, séries de casos e estudos observacionais).</p> <p>Estudos sem grupo controle separado. Estudos não originais.</p>
Pergunta de pesquisa:	<p>Quais os efeitos antimicrobianos e de toxicidade da planta <i>Tetradenia riparia</i> e seus derivados <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>?</p>	

Brevemente, para a revisão foram definidos os descritores MeSH (do inglês, Medical Subjects Headings) do Pubmed/Medline, bem como os DeCS (Descritores de Ciências da Saúde) do Centro Latino Americano e Caribenho de Ciências da Saúde (BIREME, Biblioteca Virtual em Saúde). A busca foi realizada em cinco bases de dados eletrônicas principais: PubMed, EMBASE, Scopus, Web of Science e LILACS; e em uma base de dados cinzenta (Google Scholar), durante os meses de abril a maio de 2022. A pesquisa incluiu os operadores Booleanos (E/OU) e palavras-chave/descriptores para a planta *Tetradenia riparia* e termos antimicrobianos e de toxicidade (Tabela 2).

Tabela 2 - Estratégia de busca do estudo preliminar.

Pesquisa	Query/ Pubmed
Bloco 1 Planta #1	* <i>Tetradenia riparia</i> (termo livre) OR <i>Iboza</i> OR <i>Moschosma</i> (n= 376)
Bloco 2 Farmacologia #2	Pharmacology OR cell, cultured OR Biological assay (n= 7.795.477)
Bloco 3	#1 AND #2 (n=87)

Fonte: elaborado pela autora, 2021. Busca realizada em 23 de fevereiro de 2022.

Todos os artigos identificados durante a pesquisa foram transferidos para um software de gerenciamento de referência (My Web EndNote, Thomson Reuters) e todas as duplicatas foram removidas para que então fosse realizada a etapa de seleção dos estudos (Rayyan QCRI). Nenhuma restrição de data de publicação ou de idioma foi aplicada. Analisamos as listas de referência dos estudos incluídos em busca de estudos elegíveis adicionais que não tenham sido recuperados por nossa pesquisa. Os estudos foram selecionados por dois pesquisadores cegos e independentes que fizeram primeiro a leitura dos títulos e resumos no aplicativo RAYYAN QCRI. Para isso, os revisores aplicaram a estratégia PICOS, na qual foram estabelecidos os critérios de inclusão e exclusão (Tabela 1). Os dados e resultados de cada estudo foram extraídos do texto ou das tabelas para um formulário padrão no Google Sheets

(Google Drive) por dois revisores. Se apenas um gráfico estiver disponível, os dados foram extraídos usando uma régua de tela digital (Pixel Ruler 3). Os dois especialistas verificaram os dados extraídos em pares. Além disso, as discrepâncias serão resolvidas por meio de discussão e, se necessário, consultando um terceiro investigador. Caso os dados não tenham sido informados ou não sejam claros, entraremos em contato com os autores por e-mail (máximo 3 tentativas). As variáveis foram obtidas de acordo com as orientações e sugestões dos especialistas (maiores detalhes encontram-se no protocolo da revisão sistemática registrado na PROSPERO).

4.1 AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS

A avaliação do risco de viés para estudos *in vitro* foi realizada por dois pares de revisores cegados e independentes. A avaliação do risco de viés para estudos *in vitro* foi realizada utilizando a ferramenta SciRAP (do inglês, Science in Risk Assessment and Policy) *in vitro tool* versão 2.0 (ROTH et al., 2021). Dois revisores avaliaram 22 itens relacionados ao viés de relatório e 15 de qualidade metodológica. Os domínios avaliados para viés de relatório foram: composto teste e controles; sistema de teste; administração do composto teste; coleta e análise de dados; e financiamento e conflito de interesse. Para viés de qualidade metodológica, foram avaliados os seguintes domínios: composto teste e controles; sistema teste; administração do composto teste; e coleta e análise de dados. As perguntas foram respondidas com 'Preenchido', 'Não preenchido' ou 'Parcialmente preenchido', não determinado ou não aplicado. As discrepâncias foram resolvidas pelo especialista. Para as duas avaliações, foi calculado o $score (\%) = (F + (PF*0.5)/T)*100$, onde “F” é preenchido, “PF” (parcialmente preenchido), “T” (total de questões respondidas, exceto não aplicado). Foi considerado como alto risco de viés para relatório e qualidade metodológica quando o score foi menor ou igual a 50%, moderado de 50 a 75%, e alto risco de viés quando maior ou igual 75%. Em relação à confiabilidade, os estudos foram classificados como ‘RR1’ quando confiável sem restrições; ‘RR2’ confiável com restrições, e ‘NR’ quando não confiável. Todo método de avaliação e os resultados dos pares e expertises estão reportados em uma tabela suplementar (link para acesso: https://docs.google.com/spreadsheets/d/1_zdx22-f9sjzTa5DXdrR8ApVbyJmk2vklL8W3aBUrUM/edit?usp=sharing).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No total, 18 estudos *in vitro* foram incluídos para análise do risco de viés (Tabela 3). Oito estudos investigaram o potencial de óleo essencial extraído das folhas frescas (BALDIN *et al.* 2018; CARDOSO *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* 2015; DEMARCHI *et al.* 2016; GAZIM *et al.* 2010; GAZIM *et al.* 2014; MELO *et al.* 2015a, MELO *et al.* 2015b), oito estudaram os efeitos farmacológicos de extratos de folhas (ENDO *et al.* 2015; FERNANDEZ *et al.* 2017; KAKANDE *et al.* 2019; NDIKU e NGULE 2014; NGULE *et al.* 2014; NGBOLUA *et al.* 2016; OKEM *et al.* 2012; YORK *et al.* 2012). Cinco estudos reportaram os efeitos antimicrobianos e citotóxicos de isolados da planta (BALDIN *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* 2015; TERRON-MONICH *et al.* 2018; VAN PUYVELDE *et al.* 1986; VAN PUYVELDE *et al.* 2018) e apenas dois estudos investigaram o potencial de frações isoladas de extrato ou óleo essencial da planta (GAZIM *et al.* 2014; FERNANDEZ *et al.* 2017).

Tabela 3 - Resumo das características dos artigos incluídos (n=18).

Estudo/País	Parte utilizada e derivados	Objetivo do estudo	População (cepas/linhagens, células, animais)
<i>In vitro</i>			
Baldin <i>et al.</i> 2018/ Brasil	OETr e TrROY (obtidos de folhas de <i>T. riparia</i>)	Avaliar a citotoxicidade e atividade <i>in vitro</i> do OETr e do composto puro TrROY contra <i>M. tuberculosis</i> H37Rv e isolados clínicos suscetíveis e resistentes.	1. <i>Bacillus cereus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Salmonella typhimurium</i> . 2. <i>M. tuberculosis</i> H37Rv e 19 <i>M. tuberculosis</i> isolados (sete suscetíveis à medicamentos anti-TB, seis resistentes à isoniazida e seis MDR); 3. Macrófagos peritoneais de murinos (camundongos BALB/c)
Cardoso <i>et al.</i> 2018/Brasil	Folhas (OETr obtido na primavera, no verão, no outono e no inverno)	Avaliar a atividade do OETr obtido em diferentes épocas contra <i>L. (L.) amazonensis in vitro</i> para determinar seu potencial para o tratamento da leishmaniose.	1. <i>L. (L.) amazonensis</i> promastigota (estirpe); 2. Eritrócitos humanos (tipo O+); 3. Macrófagos J774.A1; 4. Macrófagos peritoneais foram obtidos de camundongos BALB/c; 5. amastigotas intracelulares.

Demarchi <i>et al.</i> 2015a/Brasil	OETr de folhas frescas e TrROY isolado do OE	Avaliar o potencial do OE e do TrROY isolado da <i>T. riparia</i> nas formas promastigota e amastigota de <i>L. (L.) amazonensis</i> , sua citotoxicidade em eritrócitos humanos e macrófagos murinos, a produção nítrica e expressão de mRNA de sintetase de óxido nítrico induzível (iNOS).	1. Eritrócitos humanos (tipo O+); 2. Macrófagos peritoneais murinos (camundongos BALB/c) 3. Formas promastigotas de <i>L. (L.) amazonensis</i> 4. Formas amastigotas de <i>L. (L.) amazonensis</i>
Demarchi <i>et al.</i> 2016/ Brasil	OETr de folhas frescas	Avaliar os efeitos do OETr na produção de citocinas por células do líquido peritoneal infectadas com <i>L. (L.) amazonensis</i> , demonstrando a atividade antileishmania e os efeitos imunomoduladores do OETr.	1. Células do fluido peritoneal murino (camundongos BALB/c) 2. Células murinas peritoneais residentes (camundongos BALB/c) 3. <i>L. (L.) amazonensis</i>
Endo <i>et al.</i> 2015/Brasil	Extratos hidroalcoólicos de folhas de <i>T. riparia</i>	Avaliar a atividade anti-dermatofítica dos extratos hidroalcoólicos de <i>R. officinalis</i> , <i>P. guajava</i> e <i>T. riparia</i> .	<i>Trichophyton rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> e <i>Microsporum gypseum</i>
Fernandez <i>et al.</i> 2017/Brasil	EB de folhas e FR	Avaliar a atividade antioxidante por métodos de DPPH, ácido b-carotenolinoleico, RFAA e fenóis totais, e a atividade antimicrobiana pelo método de microdiluição em caldo do EB e FR de <i>T. riparia</i> por cromatografia clássica.	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , e <i>Aeromonas hydrophila</i>
Gazim <i>et al.</i> 2010/Brasil	OETr de folhas frescas	Investigar e relatar a composição química do OE isolado de folhas frescas de <i>T. riparia</i> cultivada no sul do Brasil, afetada por diferentes épocas de cultivo, juntamente com suas atividades anti-inflamatória e antimicrobiana.	<i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>Salmonella enterica</i> e <i>Candida albicans</i> .
Gazim <i>et al.</i> 2014/Brasil	OETr de folhas frescas e fração 16 e 17	Descrever o isolamento e identificação de um novo composto do óleo essencial de <i>T. riparia</i> , e as atividades antioxidantes e citotóxicas correspondentes in vitro	Células tumorais: (MDA-MB-435 (carcinoma de mama humano), HCT-8 (cólon humano), SF-295 (sistema nervoso humano) e HL-60 (leucemia promielocítica humana))
Kakande <i>et al.</i> 2019/ Uganda	Extrato etanólico bruto de folhas de <i>T. riparia</i>	Determinar a prevalência de dermatofitose e a atividade antifúngica do extrato etanólico bruto de folhas de <i>T. riparia</i> contra	<i>T. tonsurans</i> , <i>T. mentagrophyte</i> , e <i>M. audouinii</i>

		dermatófitos isolados de pacientes atendidos no <i>Kampala International University Teaching Hospital</i> , Uganda	
Melo <i>et al.</i> 2015a/Brasil	OETr de Folhas frescas	Composição química e atividade antimicrobiana do OE de folhas de <i>T. riparia</i> cultivadas no Sudeste do Brasil frente a um painel representativo de bactérias cariogênicas.	<i>Streptococcus</i> (<i>S. salivarius</i> , <i>S. sobrinus</i> , <i>S. mutans</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. sanguinis</i>) e <i>Lactobacillus casei</i>
Melo <i>et al.</i> 2015b/Brasil	OETr de folhas frescas	Avaliar os efeitos anti-helmínticos <i>in vitro</i> do OETr em vermes e ovos adultos de <i>S. mansoni</i> , bem como sua citotoxicidade contra células de mamíferos V79.	Vermes e ovos adultos de <i>Schistosoma mansoni</i>
Ndiku e Ngule 2014/ Quênia	Extrato de folhas	Analisar a atividade fitoquímica e antibacteriana do extrato de folhas de <i>T. riparia</i> .	<i>Serratia liquefaciens</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>E. coli</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> e <i>Bacillus cereus</i>
Ngbolua <i>et al.</i> 2016/República Democrática do Congo	Extrato de folhas	Investigar as atividades antifalciformes e antibacteriana direta <i>in vitro</i> das antocianinas e ácidos orgânicos extraídos de <i>G. punctata</i> e <i>T. riparia</i> .	1. Eritrócitos; 2. <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S. aureus</i> ATCC 25923, MRSA ATCC 1625, MSSA ATCC 5668) e <i>E. coli</i> (<i>E. coli</i> ATCC 25922)
Ngule <i>et al.</i> 2014/Quênia	Extrato de folhas frescas	Analisar a atividade antibacteriana dos fitoconstituintes da <i>T. riparia</i> .	<i>B. cereus</i> , <i>Serratia liquefacions</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>E. coli</i> , <i>Proteus vulgaris</i> e <i>Staphylococcus epidermidis</i>
Okem <i>et al.</i> 2012/ África do Sul	Extratos das folhas de <i>T. riparia</i> obtidos com água, EtOAc e EtOH	Avaliar a eficácia de sete plantas medicinais sul-africanas usadas na medicina tradicional para o tratamento de doenças relacionadas ao estômago. Os extratos de plantas foram selecionados para atividades antibacterianas e antifúngicas contra alguns dos agentes patogênicos conhecidos por causar doenças relacionadas ao estômago em pacientes imunossuprimidos. Extratos de plantas também foram selecionados para atividades anti-helmínticas e inibidoras da ciclooxigenase (anti-inflamatória). O teste de genotoxicidade foi feito	1. <i>E coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Enterococcus faecalis</i> ; 2. <i>Candida albicans</i> ; 3. <i>Caenorhabditis elegans</i> ; 4. solução das enzimas COX-1 e -2; 5. Cepas teste de <i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100 e TA1537 sem ativação metabólica

		para estabelecer o uso seguro dos extratos vegetais como agentes terapêuticos.	
Terron-Monich <i>et al.</i> 2018/ Brasil	TrROY (obtido de OETr de folhas de <i>T. riparia</i>)	Investigar os efeitos de TrROY na produção de citocinas por macrófagos murinos infectados com <i>L. (L.) amazonensis</i>	Macrófagos peritoneais obtidos de camundongos BALB/c
Van Puyvelde <i>et al.</i> 1986/Ruanda	8(14),15-Sandaracopimaradieno-7alfa18-diol, isolado do extrato clorofórmico das folhas de <i>T. riparia</i>	Relatar a atividade antimicrobiana do diterpenodiol 8(14),15-sandaracopimaradieno-7alfa18-diol.	<i>Bacillus subtilis</i> ; <i>Enterobacter cloacae</i> ; <i>E. coli</i> ; <i>Klebsiella pneumoniae</i> ; <i>Mycobacterium smegmatis</i> ; <i>Proteus vulgaris</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Pseudomonas solanacearum</i> . <i>Salmonella typhimurium</i> ; <i>Serratia marcescens</i> ; <i>Shigella dysenteriae</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Streptococcus pyogenes</i> . <i>Allescheria boydii</i> ; <i>Aspergillus flaus</i> ; <i>Candida albicans</i> ; <i>Epidermophyton floccosum</i> ; <i>Microsporium ferrugineum</i> ; <i>Microsporium canis</i> ; <i>Microsporium gypseum</i> ; <i>Paecilomyces</i> ; <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ; <i>Trichophyton schoenleinii</i> e <i>Microsporium breuseghenii</i> .
Van Puyvelde <i>et al.</i> 2018/Ruanda	Folhas e isolado	Identificar os compostos ativos contra helmintos da <i>T. riparia</i> .	<i>Caenorhabditis elegans</i> de tipo selvagem N2
York <i>et al.</i> 2012/África do Sul	Extrato das folhas e OETr	Determinar a eficácia antimicrobiana de 30 espécies de plantas (independentemente e combinações) usadas para infecções respiratórias na área rural de Maputaland.	<i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Mycobacterium smegmatis</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>

OETr= Óleo essencial de *Tetradenia riparia*; OE= Óleo essencial; RFAA=Redutor de ferro/Atividade antioxidante; EtOAc=Etil Acetato; EtOH=Etanol; TrROY=6,7-dehidroroileanona; Anti-TB=Anti-tuberculose MDR=Resistente a múltiplos medicamentos; EB= extrato bruto.

Fonte: Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia da UFSC, elaborado por Yasmim de Oliveira

Dalsenter. Título. Efeitos antimicrobianos e de toxicidade da planta *Tetradenia riparia* e seus derivados: uma revisão sistemática de estudos pré-clínicos (Florianópolis, SC, 25 de julho de 2022).

5.1 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

5.1.1 Óleos essenciais

Um total de sete artigos testaram óleo essencial extraído das folhas frescas da planta *T. riparia* (Tabela 4).

Tabela 4 - Resumo dos resultados dos artigos incluídos (n=18).

Estudo/País	Ensaio Farmacológicos	Conclusão
<i>In vitro</i>		
Baldin <i>et al.</i> 2018/ Brasil	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ensaio antimicrobiano 2. Atividade anti-<i>M. tuberculosis</i> 3. Ensaio de citotoxicidade em macrófagos peritoneais murinos 	OE isolado de folhas de <i>T. riparia</i> e o composto puro TrROY apresentam boa atividade contra isolados clínicos de <i>M. tuberculosis</i> , incluindo isolados MDR, com baixa citotoxicidade para macrófagos murinos. O composto TrROY é um candidato potencial para fármacos anti-TB. Além disso, o TrROY não mostrou efeitos significativos sobre as bactérias da microbiota humana, um fato extremamente importante ao estudar um novo composto com atividade contra microrganismos patogênicos.
Cardoso <i>et al.</i> 2018/Brasil	<ol style="list-style-type: none"> 1. Atividade antileishmania (promastigota); 2. Ensaio de atividade hemolítica (HA); 3. Citotoxicidade de macrófagos J774.A1; 4. Citotoxicidade de macrófagos murinos 5. Determinação de nitrito; 6. Atividade contra amastigotas intracelulares 	O OETr mostra potencial para o desenvolvimento de um novo fármaco mais seguro e com menos efeitos colaterais para o tratamento da leishmaniose.
Demarchi <i>et al.</i> 2015a/Brasil	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ensaio de hemólise (toxicidade eritrocitária); 2. Citotoxicidade de macrófagos; 3. Ensaio antileishmania em formas promastigotas: <ol style="list-style-type: none"> a) Viabilidade; b) Inibição do crescimento c) Alterações ultraestruturais 4. Ensaio de antileishmania em formas amastigotas; 5. Ensaio de nitrito 6. Expressão de mRNA de iNOS 	TrROY e principalmente OETr provocaram a morte de <i>Leishmania</i> , e TrROY mostrou perda de toxicidade para células eritrocitárias. Outros compostos derivados de <i>T. riparia</i> e do OE podem ser explorados para desenvolver uma nova alternativa de tratamento para leishmaniose.

Demarchi <i>et al.</i> 2016/ Brasil	1.Citotoxicidade; 2.Efeitos imunomoduladores; 3.Atividade antileishmania;	Os efeitos antileishmania e imunomoduladores do OETr corroboram com o uso de plantas da medicina tradicional, como a <i>T. riparia</i> , para o tratamento de infecções parasitárias. O OETr pode ser uma terapia alternativa para leishmaniose considerando seus efeitos antileishmania e imunomoduladores.
Endo <i>et al.</i> 2015/Brasil	Ensaio antifúngicos	O estudo relata que as folhas de <i>R. officinalis</i> e <i>T. riparia</i> contêm compostos bioativos antifúngicos. Os extratos hidroalcoólicos de ambas as espécies mostraram-se eficazes contra dermatófitos, inibindo o crescimento de fungos e causando alterações morfológicas em suas hifas. Isso apoia seu uso na medicina popular para tratar distúrbios da pele. Essas espécies são fontes potenciais para o desenvolvimento de estratégias de tratamento antifúngico.
Fernandez <i>et al.</i> 2017/Brasil	1. Ensaio antimicrobianos 2. Ensaio de antioxidantes	Demonstrou que o fracionamento do extrato foi extremamente importante para detectar a presença de FR com atividade antioxidante e antimicrobiana superior ao EB. O EB e o FR-IV apresentaram resultados promissores de potencial antioxidante e o FR-I na ação antimicrobiana sobre as cepas de bactérias Gram-positivas.
Gazim <i>et al.</i> 2010/Brasil	Determinação da atividade antimicrobiana	O óleo de <i>T. riparia</i> apresentou boa atividade antimicrobiana afetada pela variação sazonal. Essas diferenças podem ser atribuídas às mudanças na precipitação e temperatura.
Gazim <i>et al.</i> 2014/Brasil	Atividade citotóxica	Ao fracionar o óleo, foi possível identificar dois compostos inéditos: um com alto potencial citotóxico e outro com alto potencial antioxidante. Esses resultados forneceram perspectivas adicionais para a avaliação de novos compostos com atividade farmacológica.
Kakande <i>et al.</i> 2019/ Uganda	Atividade antidermatofítica	Os achados deste estudo relataram a presença de dermatófitos causadores de dermatofitoses entre os pacientes atendidos no KIU-TH. Os resultados do mostraram que o Extrato Bruto etanólico das folhas de <i>T. riparia</i> possui atividade antidermatofítica contra os dermatófitos testados.
Melo <i>et al.</i> 2015a/Brasil	Ensaio antimicrobianos	O OETr apresenta atividade antimicrobiana promissora contra algumas bactérias cariogênicas, incluindo <i>Streptococcus mutans</i> , que é um dos principais agentes causadores de cárie dentária. A composição química do OETr foi ligeiramente diferente da relatada em estudos anteriores. Em conjunto, os resultados sugeriram que este OE pode ser promissor para o desenvolvimento de novos produtos de higiene bucal.
Melo <i>et al.</i> 2015b/Brasil	1. Ensaio esquistossomicidas 2. Atividade citotóxica	O OETr foi eficaz contra vermes adultos de <i>S. mansoni</i> e inibiu o desenvolvimento de ovos. Os presentes resultados sugerem que a atividade esquistossomicida deste OE merece uma investigação mais aprofundada para identificar os constituintes químicos que propiciam essa atividade.
Ndiku and Ngule 2014/ Quênia	Atividade antibacteriana	A planta <i>T. riparia</i> demonstrou grande potencial como fonte de novos antibióticos no tratamento contra as infecções causadas pelos microrganismos testados. Os resultados desta pesquisa são indicativos de que a planta extraída da forma tradicional pode ser utilizada para o tratamento de diversas doenças que acometem

		os seres humanos atualmente. A ação da planta contra os microrganismos pode ser devido a um efeito sinérgico de dois ou mais compostos encontrados na planta.
Ngbolua <i>et al.</i> 2016/República Democrática do Congo	1. Atividade antibacteriana 2. Experiências antifalciformes e hemolíticas;	A avaliação da composição química de <i>Garcinia punctata</i> e <i>T. riparia</i> e os efeitos antifalciforme e antibacteriano de antocianinas e ácidos orgânicos extraídos das espécies vegetais mencionadas, sugere que os extratos dessas plantas podem ser uma fonte natural de agentes antifalciformes e antibacterianos.
Ngule <i>et al.</i> 2014/Quênia	Atividade antibacteriana	A presença de importantes fitoconstituintes farmacológicos e a atividade antibacteriana observada no extrato aquoso das folhas frescas da planta indicam a importância medicinal de <i>T. riparia</i> . O estudo pode ser uma justificativa científica parcial do uso de plantas no tratamento contra as infecções causadas pelos microrganismos testados.
Okem <i>et al.</i> 2012/África do Sul	1. Atividade antibacteriana; 2. Atividade antifúngica; 3. Atividade anti-helmíntica; 4. Ensaio anti-inflamatório; 5. Potencial de genotoxicidade;	Os resultados da triagem farmacológica apresentados neste estudo validam até certo ponto a eficácia das plantas medicinais selecionadas usadas no tratamento de doenças relacionadas ao estômago. Contudo, os demais aspectos de doenças relacionadas ao estômago, como úlceras gástricas, distúrbios de motilidade, indigestão e infecções do trato gastrointestinal inferior não foram abordados neste estudo. O teste de genotoxicidade mostrou que nenhum dos extratos vegetais foi mutagênico para as cepas teste de <i>Salmonella</i> . A análise fitoquímica revelou diferentes classes de metabólitos secundários nas espécies vegetais estudadas.
Terron-Monich <i>et al.</i> 2018/ Brasil	1. atividade anti- <i>Leishmania</i> 2. efeitos imunomoduladores;	TrROY pode ser um promissor agente anti- <i>Leishmania</i> que pode estimular a resposta imune protetora contra patógenos intracelulares e inibir reações imunes indesejáveis. TrROY pode ser um agente terapêutico alternativo para leishmaniose. Além disso, considerando a modulação da IL-4 liberada pelo TrROY, este diterpeno deve ser avaliado em outras parasitoses que induzam o viés TH2. A expressão e atividade da arginase também devem ser investigadas para elucidar os efeitos imunomoduladores da TrROY nesta via.
Van Puyvelde <i>et al.</i> 1986/Ruanda	Atividade antimicrobiana	Anteriormente, novas substâncias foram isoladas das folhas da <i>T. riparia</i> , incluindo o 8(14),15-sandaracopimaradieno-7 α ,18diol. Este diterpeno diol apresenta atividade antimicrobiana significativa contra várias bactérias e fungos. A concentração inibitória mínima (CIM) da substância para os microrganismos inibidos variou de 6,25 a 100 pg/ml.
Van Puyvelde <i>et al.</i> 2018/Ruanda	Atividade anti-helmíntica	Foi identificado o composto bioativo da <i>T. riparia</i> responsável por sua atividade anti-helmíntica: 8(14),15-sandaracopimaradieno-7 α ,18-diol.
York <i>et al.</i> 2012/África do Sul	Atividade antimicrobiana	Embora este estudo in vitro apoie o uso tradicional de algumas plantas independentemente e em combinação para o tratamento de doenças respiratórias na área rural de Maputaland, os resultados demonstram que a seleção tradicional de plantas com maior frequência

não necessariamente se correlaciona com maior eficácia antimicrobiana.

IL= interleucina; CAMHB=meio com ajuste de Ca²⁺ e Mg²⁺;

Fonte: Adaptado de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia da UFSC, elaborado por Yasmim de Oliveira Dalsenter. Título. Efeitos antimicrobianos e de toxicidade da planta *Tetradenia riparia* e seus derivados: uma revisão sistemática de estudos pré-clínicos (Florianópolis, SC, 25 de julho de 2022).

A maioria dos estudos foram realizados no Brasil, e de plantas do estado do Paraná. Baldin *et al.* (2014) mostraram que o óleo essencial da planta *T. riparia* quando testado da forma pura obteve atividade antimicrobiana em isolados testados de *M. tuberculosis*. Cardoso *et al.* (2018) testaram óleo essencial sobre parasitos do gênero *Leishmania*, assim como, Demarchi *et al.* (2015). O isolado 6,7-dehidroroileanona extraído do óleo essencial das folhas de *T. riparia* tem capacidade de induzir morte de parasitas do gênero *Leishmania* a partir da alteração no metabolismo mitocondrial. (DEMARCHI *et al.* 2016/ Brasil). GAZIM *et al.* (2010) testaram óleo essencial extraído e obtiveram diferença entre as colheitas das diferentes estações, onde houve comparação de atividades anti-inflamatórias e antimicrobianas como o estudo, e concluíram que o óleo de *T. riparia* obteve uma boa atividade antimicrobiana, testados em *S aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. faecalis*, *Proteus mirabilis*, *K. pneumoniae*, *Salmonella enterica* e *Candida albicans*, e analgésica. (GAZIM *et al.* 2014/Brasil) testaram o óleo da planta *T. riparia* extraídos das folhas, testou, pode-se observar que o óleo possui um alto potencial citotóxico e antioxidante. (MELO *et al.* 2015b/Brasil), com planta do estado de São Paulo, em concentrações de 50 e 100 µg/mL, do óleo de *T. riparia*, matou todos os vermes adultos de *Schistosoma mansoni* após um período de 24h de incubação.

5.1.2 Extratos

Foram incluído um total de 8 artigos utilizando extratos, das folhas da planta *T.* que foram: ENDO *et al.* 2015 utilizou extratos hidroalcoólicos de folhas da planta *T. riparia*, coletadas na cidade de Maringá (PR), com uma concentração 250 µg de extrato, podendo concluir que os extratos testados contra os dermatófitos, foram eficazes contra crescimentos de fungos e causando alteração morfológica em suas

hifas. FERNANDEZ *et al.* 2017, utilizou extrato de forma fracionada podendo observar que este extrato foi essencial para realizar algumas descobertas de algumas frações importantes, nas quais possuem ação antioxidante e antimicrobiana.

KAKANDE *et al.* 2019 utilizaram extrato etanólico bruto de folhas de *T. riparia* contra dermatófitos isolados de pacientes atendidos no Kampala International University Teaching Hospital, Uganda. Pode - se concluir que o extrato bruto da planta possui compostos bioativos que são ativos contra os dermatófitos nos quais foram testados. NDIKU e Ngule 2014, testaram o extrato retirado das *T. riparia*, observando que o extrato da planta possui um grande potencial para o tratamento de infecções causadas por microrganismos que foram testados.

NGULE *et al.* 2014, utilizaram folhas frescas que foram colhidas em torno da universidade da África Oriental em Baraton, de forma aleatoriamente, foram secas em um local ambiente. De acordo, pode - se observar que as folhas frescas inibem o crescimento de *Salmonella typhi*, do que as folhas secas. O extrato feito das folhas frescas da planta *T. riparia* possui uma grande presença de atividade antimicrobiana e fito constituintes farmacológicos

NGBOLUA *et al.* 2016/República Democrática do Congo) utilizaram extrato de folhas de 100 g de material vegetal em pó seco, e após caracterização química, foi observado que se trata de uma fonte natural de agente anti - falciformes e antimicrobianos, porém são necessários mais estudos futuros para avaliação de toxicidade *in vivo* e *in vitro*. (OKEM *et al.* 2012/ South África), as folhas da planta em estudo *T. riparia* foram coletadas Pietermaritzburg em KwaZulu-Natal, África do Sul, foram obtidas com H₂O, EtOAc, EtOH 70% usado como controle negativo. De acordo com o estudo, os resultados de escolha farmacológica validam a eficácia das plantas medicinais que foram utilizadas no tratamento das doenças. Porém demais aspectos como distúrbios de motilidade, indigestão, úlceras gástricas, infecção do trato gastrointestinal não foram trazidas neste estudo. O teste de genotoxicidade mostrou que nenhum dos extratos vegetais foi mutagênico para *Salmonella*, já a análise fitoquímica revelou diferentes classes de metabólitos secundários nas espécies vegetais estudadas.

YORK *et al.* 2012 (Sul da África) prepararam extratos derivados de folhas secas da planta. Nesse estudo foram preparados dois tipos de extrato, um aquoso de onde foi realizada uma destilação do óleo essencial, e outra CH 2 Cl 2: MeOH (extratos

orgânicos). De acordo com o estudo foi observado que o uso da planta não teve grande potencial antimicrobiano.

5.1.3 Isolados

Foram incluídos o total de 5 artigos com método de extração por isolados da planta *T. riparia*. sendo realizados testes com os seguintes compostos: 6,7-dehidrooleanona (TrROY) e 8(14),15-sandaracopimaradieno-7alfa,18diol (BALDIN *et al.* 2018; DEMARCHI *et al.* 2015; TERRON - MONICH *et al.* 2018; VAN PUYVELDE *et al.* 1986; VAN PUYVELDE *et al.* 2018)

Para o isolado 6,7-dehidrooleanona extraído por BALDIN *et al.* 2018, foram coletadas amostras de *T. riparia* no estado do Paraná, no município de Umuarama. Conclui – se que o isolado 6,7-dehidrooleanona apresenta atividade contra isolados clínicos de *M. tuberculosis*, também apresentando baixa citotoxicidade para macrófragos em murinos. Também apresentou um espectro de atividade importante contra bactérias gram-positivas, enquanto teve baixa atividade contra bactérias gram-negativas;

DEMARCHI *et al.* 2015, utilizou e testou o isolado de 6,7-dehidrooleanona (TrROY) o mesmo mostrou que possui capacidade de induzir a morte por parasitas do gênero *Leishmania*, através do metabolismo mitocondrial, porém não foi citotóxico em células eritrocitárias humanas.

Em TERRON - MONICH *et al.* 2018, foi utilizado o isolado 6,7-dehidrooleanona das folhas de *T. riparia* que foram colhidas na cidade de Umuarama (PR), utilizando concentrações de (0,1 e 100 µg/ml), que foi identificada através da técnica ressonância magnética nuclear, para avaliação da produção de citocinas. O que se observou foi que o isolado por tem grande potencial anti - *Leishmania*, podendo estimular a resposta imune contra patógenos intracelular, pode também ser agente terapêutico alternativo para leishmaniose. Porém testes adicionais não podem ser descartados tanto *in vivo* quanto *in vitro* para realizar a confirmação do potencial anti - *Leishmania* e imunomodulador do isolado.

VAN PUYVELDE *et al.* 1986, estudou o isolado 8(14),15-sandaracopimaradieno-7alfa,18diol das folhas de *T. riparia* e observou que o Diol (diterpeno) apresentou atividade significativa antimicrobiana contra vários fungos e

bactérias. O isolado apresentou atividade anti-helmíntica (VAN PUYVELDE *et al.* 2018).

5.1.4 Frações

Nos artigos selecionados, foram incluídos 2 artigos por extração realizada por frações, são eles: (GAZIM *et al.* 2014/Brasil), foram coletadas das frações 16 (6,6mg) e 17(11,7mg),coletadas na cidade de Umuarama (PR) de *T. riparia* foram encontradas:(porção 16) 9 β ,13 β -epoxi-7-abietenos, e (porção 17) 6,7-didehidrooleanona a concentração utilizadas foi de 25 μ g/mL - 1, pode - se concluir que quando o óleo foi fracionado foi possível realizar a identificação de dois compostos, o primeiro com um alto potencial de citotoxicidade e outro com grande potencial antioxidante; (FERNANDEZ *et al.* 2017/Brasil) Foram realizadas análises a fração que maior apresentou potencial foi FR-I antibacteriano na cepa *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Bacillus cereus* a FR-I tem grande importância em sua ação antimicrobiana sobre as cepas de bactérias gram-positivas.

Após a extração dos dados e síntese narrativa. O viés de relatório e qualidade metodológica foi verificado pela ferramenta Scirap.

5.2 VIÉS DE RELATÓRIO

Dos 18 estudos, a maioria dos (11) apresentaram baixo risco de viés e sete risco moderado: (ENDO *et al.*, 2015; FERNANDEZ *et al.*, 2017; MELO *et al.*, 2015a; NDIKU e NGULE, 2014; OKEM *et al.*, 2012; Van PUYVELDE, 1986; YORK *et al.*, 2012)(Quadro 1).

Quadro 1 - Risco de viés de relatório

Quadro 1. Qualidade do relatório dos estudos incluídos na revisão utilizando a ferramenta SciRAP (SciRAP tool versão 2.0).																			
Critérios de avaliação PERGUNTAS	Baldin et al., 2018	Cardoso et al., 2015	Demarchi et al., 2015	Demarchi et al., 2016	Endo et al., 2015	Fernandez et al., 2017	Gazim et al., 2010	Gazim et al., 2014	Kakande et al., 2019	Melo et al., 2015a	Melo et al., 2015b	Ndiku e Ngule, 2014	Ngbolua et al., 2016 (modugorayyan)	Ngule et al., 2014	Okem et al., 2012	Terron-Monich et al., 2018	Van Puyvelde, 1986	Van Puyvelde et al., 2018	York et al., 2012
Composto de teste e controles																			
1	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
2	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
3	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	PF
4	F	F	F	F	PF	NF	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
Sistema Teste																			
5	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
6	F	PF	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
7	F	F	F	F	NF	NF	NF	F	NF	NF	F	NF	F	NF	NF	NF	NF	NF	NF
8	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	F	F	F	NF	PF	F	NF	NF
9	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	PF
10	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
11	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF	NF
Administração do composto de teste																			
12	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
13	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
14	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
15	PF	F	F	F	NF	NF	F	F	NF	F	F	NF	F	F	F	F	NF	NF	NF
Coleta e análise de dados																			
16	NF	F	F	F	NF	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
17	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
18	F	F	F	F	NF	NF	NF	F	NF	NF	F	NF	F	NF	NF	NF	NF	NF	NF
19	F	F	F	NF	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
20	NF	F	F	F	NF	F	F	F	F	NF	F	NF	F	NF	NF	F	NF	F	NF
Financiamento e interesses concorrentes																			
21	F	NF	F	F	F	F	F	F	F	F	F	NF	F	F	F	F	NF	F	F
22	F	NF	F	F	F	F	NF	F	F	NF	NF	NF	NF	F	NF	F	NF	F	NF
SciRAP score=(F+(PF*0,5)/22*100)	80	80	91	86	66	73	77	91	77	73	86	68	91	82	73	84	68	77	64
Julgamento final	B	B	B	B	M	M	B	B	B	M	B	M	B	B	M	B	M	B	M

Legend: F= fulfilled (preenchido); NF= not fulfilled (não preenchido); PF= partially fulfilled (parcialmente preenchido); B=baixo risco de viés (% score >75%); M= moderado risco de viés (% score 50-75%).

Fonte: Elaborado pela autora.

Questões:

Composto de teste e controles

1. Foi fornecido o nome químico ou outra identificação como o número CAS, do composto teste?
2. A pureza do composto de teste foi declarada ou é rastreável de acordo com as informações fornecidas em relação ao fabricante e número de lote/lote. No caso de misturas, a composição de diferentes constituintes foi indicada.
3. O veículo foi descrito por exemplo (salina)
4. Foi declarado que um controle não tratado ou de veículo foi incluído.

Sistema Teste

5. Foi descrito o sistema teste (linhagem celular/células/tecidos/ órgãos/ embrião)
6. Foi indicado a fonte do sistema teste

7. Foi descrito a viabilidade celular do sistema teste
8. Foi indicado o número de passagens celular de células/patógenos utilizada
9. A composição da média foi descrita, incluindo uso de antibióticos, soro, entre outros.
10. Foi descrito concentração de CO₂, temperatura de incubação e umidade
11. Foi descrita as medidas tomadas para evitar ou rastrear a contaminação, como por exemplo mycoplasma, bactérias, fungos e vírus.

Administração do composto teste

12. Foi indicado os níveis de dose ou concentrações administradas
13. Foi descrito densidade de células/ patógenos ou número usado durante o tratamento
14. Foi informada a duração do tratamento
15. Foi indicado o número de replicatas por nível de concentração de dose ou o número de vezes que o experimento foi repetido

Coleta e análise de dados

16. Os testes e/ou métodos analíticos utilizados foram suficientemente descritos para permitir a avaliação da confiabilidade dos resultados
17. Foi informado os momentos de coleta de dados (24h)
18. Foi declarado que o efeito do composto de teste na citotoxicidade foi medido.
19. Todos os resultados foram claramente apresentados
20. Os métodos estatísticos e softwares usados foram descritos

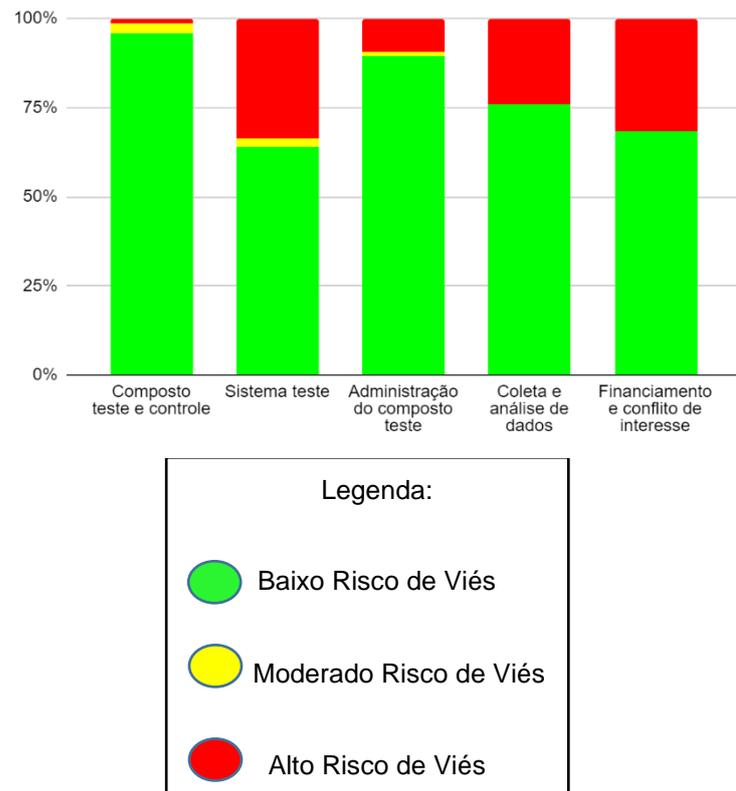
Financiamento e interesses concorrentes

21. Foram indicadas fontes de financiamento para o estudo
22. Quaisquer interesses concorrentes foram divulgados ou foi explicitamente declarado que os autores não tinham interesses concorrentes

Os maiores problemas foram reportados nos domínios de sistema teste e financiamento e conflito de interesse, e também em coleta e análise de dados (Figura 2A).

Figura 2. Resumo do risco de viés de relatório e qualidade dos estudos *in vitro*.

A) Relatório



Fonte: Elaborado pela autora.

As questões que mais tiveram dados não preenchidos foram as com os domínios de número: 7. Foi descrita a viabilidade celular do sistema teste; 8. Foi indicado o número de passagens celular de células/patógenos utilizada; 11. Foi descrita as medidas tomadas para evitar ou rastrear a contaminação, como por exemplo mycoplasma, bactérias, fungos e vírus, 15. Foi indicado o número de replicatas por nível de concentração de dose ou o número de vezes que o experimento foi repetido; 18. Foi declarado que o efeito do composto de teste na citotoxicidade foi medido; 20 - Os métodos estatísticos e softwares usados foram descritos; 22 - Quaisquer interesses concorrentes foram divulgados ou foi explicitamente declarado que os autores não tinham interesses concorrentes

5.3 VIÉS DE QUALIDADE METODOLÓGICA

Dos 18 estudos, a maioria teve baixo risco de viés para qualidade metodológica (13) nas quais foram as de número: 1. Nome químico, ou outra identificação como

número CAS do composto teste foi fornecido; 2. A pureza do composto teste foi declarada ou é rastreável de acordo com as informações fornecidas em relação aos fabricantes e o número de lote/lote. No caso de misturas, foi indicada a composição de diferentes constituintes; 3. Foi usado um solvente apropriado (veículo) que não deve interferir nos resultados do estudo na concentração utilizada; 4. Foi incluído algum controle de solvente (veículo); 5. Foi incluído um controle positivo apropriado, e o resultado esperado foi observado a partir deste tratamento; 8. A duração da exposição foi adequada para o sistema de teste e os parâmetros investigados; 9. As concentrações utilizadas foram adequadas para o sistema de teste e os parâmetros investigados; 10. As condições de teste durante e após a exposição ao composto de teste foram adequadas (meio e soro usados, densidade celular, temperatura de incubação, umidade, concentração de CO₂); 11. Testes confiáveis e sensíveis e/ou métodos analíticos foram usados para investigar os parâmetros; 12. Números suficientes de réplicas ou repetições do experimento foram usados para gerar resultados confiáveis e válidos (mínimo três/2 experimentos independentes); 13. As medições foram coletadas em pontos de tempo adequados para gerar dados sensíveis, válidos e confiáveis; 14. A citotoxicidade foi medida e o composto de teste não causou citotoxicidade que afetou significativamente os resultados; 15. Os métodos estatísticos foram claramente descritos e não parecem inadequados, incomuns ou desconhecidos. Cinco estudos tiveram risco moderado foi as com domínio de número 4. Foi incluído algum controle de solvente (veículo); 11. Testes confiáveis e sensíveis e/ou métodos analíticos foram usados para investigar os parâmetros; 12. Números suficientes de réplicas ou repetições do experimento foram usados para gerar resultados confiáveis e válidos (mínimo três/2 experimentos independentes); 14. A citotoxicidade foi medida e o composto de teste não causou citotoxicidade que afetou significativamente os resultados; 15. Os métodos estatísticos foram claramente descritos e não parecem inadequados, incomuns ou desconhecidos.

As questões que apresentaram viés foram as com o domínio de número: 6. Um sistema de teste confiável e sensível (linha celular/células/tecido/órgão/embrião) com competência metabólica, se relevante, foi usado para investigar o composto de teste e os parâmetros; 7. As condições para cultivo e/ou manutenção da linhagem celular/células/tecido/órgão/embrião (temperatura de incubação, umidade, concentração de CO₂, meio utilizado, número de passagens celulares, controle de

contaminação) foram adequadas; 14. A citotoxicidade foi medida e o composto de teste não causou citotoxicidade que afetou significativamente os resultados. (Quadro 2).

Quadro 2. Viés de qualidade metodológica

Quadro 2. Qualidade metodológica e confiabilidade dos estudos <i>in vitro</i> utilizando a ferramenta SciRAP.																			
Critérios de avaliação/Identificador																			
Composto de teste e controles	Baldin et al., 2018	Cardoso et al., 2015	Demarchi et al., 2015	Demarchi et al., 2016	Endo et al., 2015	Fernandez et al., 2017	Gazim et al., 2010	Gazim et al., 2014	Kakan de et al., 2019	Melo et al., 2015a	Melo et al., 2015b	Ndiku e Ngule, 2014	Ngbolua et al., 2016 (modugorayan)	Ngule et al., 2014	Okem et al., 2012	Terron-Monich et al., 2018	Van Puyvelde, 1986	Van Puyvelde et al., 2018	York et al., 2012
1	F	F	F	NF	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
2	F	F	F	PF	NF	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
3	PF	PF	F	F	F	NF	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
4	F	PF	F	PF	F	NF	NF	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
5	F	F	PF	PF	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
Sistema Teste																			
6	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF
7	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	F	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF
Administração do composto de teste																			
8	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
9	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
10	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	PF	PF	PF	F	PF	F	PF	PF	F
Coleta e análise de dados																			
11	NF	F	F	F	NF	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
12	NF	F	PF	F	NF	F	F	F	NF	F	F	NF	F	F	F	F	NF	NF	PF
13	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
14	F	F	F	F	NF	NF	NF	F	NF	NF	F	NF	NF	NF	NF	F	NF	NF	NF
15	NF	F	F	F	NF	F	F	F	F	NF	F	NF	F	NF	NF	F	NF	F	PF
SciRAP score=(F+(PF*0,5)/15*100)	70	87	87	77	60	73	80	93	83	80	90	70	83	80	77	93	70	77	80
Julgamento final	M	B	B	B	M	M	B	B	B	B	B	M	B	B	B	B	M	B	B
Confiabilidade	NR	RR	RR	RR	NR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	NR	RR	RR	RR	RR	RR	RR	RR

Legend: F= fulfilled (preenchido); NF= not fulfilled (não preenchido); PF= Partially fulfilled (parcialmente preenchido); A= alto risco de viés (<50%); B= baixo risco de viés (% score >75%); M= moderado risco de viés (% score 50-75%); NR= não confiável (Not reliable); RR= Confiável com restrições (Reliable with restrictions).

Fonte: Elaborado pela autora.

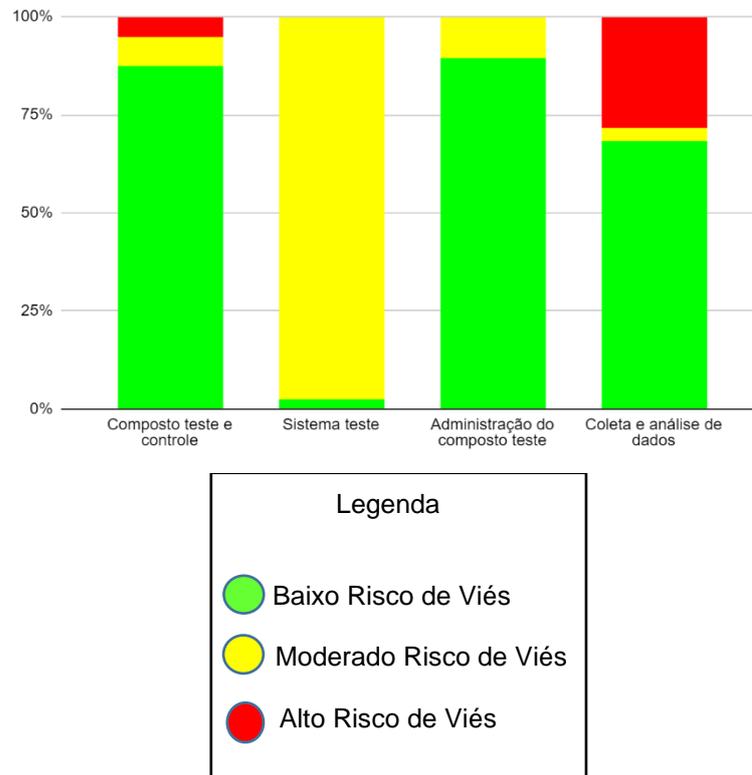
Questões:

1. Nome químico, ou outra identificação como número CAS do composto teste foi fornecido
2. A pureza do composto teste foi declarada ou é rastreável de acordo com as informações fornecidas em relação aos fabricantes e o número de lote/lote. No caso de misturas, foi indicada a composição de diferentes constituintes.
3. Foi usado um solvente apropriado (veículo) que não deve interferir nos resultados do estudo na concentração utilizada

4. Foi incluído algum controle de solvente (veículo)
5. Foi incluído um controle positivo apropriado, e o resultado esperado foi observado a partir deste tratamento
6. Um sistema de teste confiável e sensível (linha celular/células/tecido/órgão/embrião) com competência metabólica, se relevante, foi usado para investigar o composto de teste e os parâmetros
7. As condições para cultivo e/ou manutenção da linhagem celular/células/tecido/órgão/embrião (temperatura de incubação, umidade, concentração de CO₂, meio utilizado, número de passagens celulares, controle de contaminação) foram adequadas
8. A duração da exposição foi adequada para o sistema de teste e os parâmetros investigados.
9. As concentrações utilizadas foram adequadas para o sistema de teste e os parâmetros investigados.
10. As condições de teste durante e após a exposição ao composto de teste foram adequadas (meio e soro usados, densidade celular, temperatura de incubação, umidade, concentração de CO₂).
11. Testes confiáveis e sensíveis e/ou métodos analíticos foram usados para investigar os parâmetros.
12. Números suficientes de réplicas ou repetições do experimento foram usados para gerar resultados confiáveis e válidos (mínimo três/2 experimentos independentes).
13. As medições foram coletadas em pontos de tempo adequados para gerar dados sensíveis, válidos e confiáveis.
14. A citotoxicidade foi medida e o composto de teste não causou citotoxicidade que afetou significativamente os resultados.
15. Os métodos estatísticos foram claramente descritos e não parecem inadequados, incomuns ou desconhecidos.

Os domínios que apresentaram vieses foram, coleta, análise de dados do composto teste e controle. (Figura 2B)

B) Qualidade metodológica



Fonte: Elaborado pela autora.

5.4 CONFIABILIDADE

Dos 18 estudos, 15 apresentaram-se como confiáveis com restrição para toxicidade e atividade antimicrobiana. No entanto, três estudos que foram: 12 - Números suficientes de réplicas ou repetições do experimento foram usados para gerar resultados confiáveis e válidos (mínimo três/2 experimentos independentes); 14 - A citotoxicidade foi medida e o composto de teste não causou citotoxicidade que afetou significativamente os resultados; 15 - Os métodos estatísticos foram claramente descritos e não parecem inadequados, incomuns ou desconhecidos apresentaram vieses significativas que reduziram a confiança nos resultados apresentados (Figura 3)

Figura 3 – Confiabilidade

Confiabilidade



Legenda: Verde: Baixo risco de viés; Amarelo: Moderado risco de viés; Vermelho: Alto risco de viés.

Fonte: Elaborado pela autora.

É de grande importância realizar uma análise do risco de viés de qualidade metodológica, pois isso pode de forma direta ou indireta contribuir para uma tomada de decisão clínica ou também de saúde pública (SAÚDE, 2014). Pode-se definir a qualidade metodológica de um estudo, quando o mesmo está relacionado a um baixo risco de viés. Pode-se quantificar a qualidade contida em estudos, utilizando ferramentas específicas para a condução de uma revisão sistemática como a Cochrane (HTANALYZE, 2022).

A análise do risco de viés de qualidade, possui vários comparativos de dados de acordo com acrônimo PICO que é estabelecido no início da pesquisa. A ferramenta utilizada neste trabalho para análise do risco de viés foi a Cochrane, que envolve várias etapas: cegamento dos participantes, método de randomização, sigilo de alocação, cegamento da parte do avaliador, dados incompletos dos desfechos, relato seletivo de desfecho, dentre outras fontes do viés (COCHRANE, 2022). A análise do risco viés tem grande importância para realização de um futuro diagnóstico, intervenção ou exposição. Por isso foi realizada uma análise da avaliação do nível de evidência que estão aplicadas as revisões sistemáticas (CANTO, 2020).

O sistema GRADE utilizado tem sido amplamente utilizado nas revisões de estudos pré-clínicos e tem grande importância para uma escolha de decisão em saúde

(HOOIJMANS *et al.*, 2014; SCHUNEMANN *et al.*, 2013). Com a aplicação deste programa, podemos ter uma compreensão maior dos estudos, com menor necessidade de pesquisas em animais e ter pesquisas mais refinadas.

Um dos critérios do sistema GRADE é a análise do risco de viés, que foi o item avaliado neste estudo para realizar uma análise dos impactos desses estudos, porém existem ainda alguns itens que necessitam ser avaliados como: inconsistência e precisão, os quais irão ser analisados futuramente.

6 FINANCIAMENTO

Não houve custos para o desenvolvimento do projeto. Os materiais utilizados foram computadores e acesso à internet, adquiridos pelo pesquisador ou disponíveis na instituição, além da disponibilidade de tempo dos desenvolvedores para realização das atividades de pesquisa e discussão dos resultados.

7 CONCLUSÃO

A maioria dos estudos *in vitro* sobre atividade da planta *Tetradenia riparia* e seus derivados em *Leishmania* apresenta baixo risco de viés de qualidade metodológica e de relatório. Entre as principais questões com problemas foram sistema testado, coleta e análise de dados relacionados a citotoxicidade. Além disso, a maioria foi considerada confiável com algumas restrições. Pode-se concluir que os estudos *in vitro* sobre eficácia antimicrobiana da planta *Tetradenia riparia* são confiáveis, com restrição maior quanto aos testes de citotoxicidade. No GRADE, recomendamos a redução de um nível de evidência no item risco de viés. Destacamos que esse desfecho precisa ser melhor investigado em estudos pré-clínicos antes de estudo em seres humanos.

CONTRIBUIÇÕES: Jéssica Piovesan de Oliveira e Izabel Galhardo Demarchi idealizaram o trabalho, participaram de todas as etapas e revisaram este material. Yasmim de Oliveira Dalsenter coletou dados e revisou as tabelas de eficácia. As acadêmicas Tainá Larissa Lubschinski e Eduarda Talita Mohr Bramorski auxiliaram na etapa de análise do viés.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR-NASCIMENTO, José Eduardo de. Fundamental steps in experimental design for animal studies. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 20, p. 2-3, 2005.
- BALDIN, Vanessa Pietrowski et al. Anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity of essential oil and 6, 7-dehydroroyleanone isolated from leaves of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae). *Phytomedicine*, v. 47, p. 34-39, 2018.
- BALENTINE DA, Albano MC, Nair MG. Role of medicinal plants, herbs, and spices in protecting human health. *Nutr Rev.* 1999 Sep;57(9 Pt 2): S41-5. doi: 10.1111/j.1753-4887.1999.tb01806. x. PMID: 10568350.
- BRASIL Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia.
- CARDOSO, Bruna Muller et al. Antileishmanial activity of the essential oil from *Tetradenia riparia* obtained in different seasons. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 110, p.1024-1034, 2015.
- COCHRANE. Ferramenta de risco de viés “Cochrane Risk of Bias”: versão 1.0 e versão 2.0 (RoB 2.0), 2022. Disponível em: <https://eme.cochrane.org/ferramenta-de-risco-de-vies-cochrane-risk-of-bias-versao-1-0-e-versao-2-0-rob-2-0/#:~:text=A%20nova%20ferramenta%20avalia%20o,avalia%C3%A7%C3%A3o%20do%20risco%20de%20vi%C3%A9s>.
- DIRETRIZES METODOLÓGICAS : Sistema GRADE – Manual de graduação da qualidade da evidência e força de recomendação para tomada de decisão em saúde / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Ciência e Tecnologia. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 72 p.: il.
- CHUNEMANN, Holger; BRÖZEK, Jan; GUYATT, Gordon; OXMAN, Andrew. Handbook for grading the quality of evidence and the strength of recommendations using the GRADE approach. Updated October, 2013. Disponível em: <https://gdt.gradepro.org/app/handbook/handbook.html>.
- DE LUCA-CANTO, G. et al. Revisões sistemáticas da literatura: guia prático. Curitiba: Brazil Publishing, 2020.

DEMARCHI, Izabel G. et al. Immunomodulatory activity of essential oil from *Tetradenia riparia* (Hochstetter) Codd in murine macrophages. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 30, n. 6, p. 428-438, 2015b.

DEMARCHI, Izabel Galhardo et al. Antileishmanial activity of essential oil and 6, 7-dehydroroyleanone isolated from *Tetradenia riparia*. *Experimental Parasitology*, v. 157, p.128-137, 2015a.

DEMARCHI, Izabel Galhardo et al. Antileishmanial and immunomodulatory effects of the essential oil from *Tetradenia riparia* (Hochstetter) Codd. *Parasite Immunology*, v. 38, n. 1, p.64-77, 2016.

ENDO, E. H. et al. Antidermatophytic activity of hydroalcoholic extracts from *Rosmarinus officinalis* and *Tetradenia riparia*. *Journal de mycologie medicale*, v. 25, n. 4, p. 274-279, 2015.

GAZIM, Zilda Cristiani et al. Acaricidal activity of the essential oil from *Tetradenia riparia* (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari; Ixodidae). *Experimental parasitology*, v. 129, n. 2, p. 175-178, 2011.

GAZIM, Zilda Cristiani et al. Seasonal variation, chemical composition, and analgesic and antimicrobial activities of the essential oil from leaves of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd in Southern Brazil. *Molecules*, v. 15, n. 8, p. 5509-5524, 2010.

HTANALYZE. GRADE em Revisões Sistemáticas. 2022. Disponível em: <https://www.htanalyze.com/metanalise/grade/>. Acesso em: 23 nov. 2022

NGBOLUA, K. N. et al. Antisickling and antibacterial activities of *Garcinia punctata* Oliv.(Clusiaceae) and *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd (Lamiaceae) from Democratic Republic of the Congo. *J. Adv. Med. & Life Sci. V4I1. DOI*, v. 10, 2016.

NGULE, Mutuku Chrispus et al. Preliminary phytochemical and antibacterial screening of fresh *Tetradenia riparia* leaves water extract against selected pathogenic microorganisms. *Int J Bioassays*, v. 3, p. 3413-3418, 2014.

OKEM, A.; FINNIE, J. F.; VAN STADEN, J. Pharmacological, genotoxic and phytochemical properties of selected South African medicinal plants used in treating stomach-related ailments. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 139, n. 3, p. 712-720, 2012.

ROTH N, Zilliacus J and Beronius A(2021) Development of the SciRAP Approach for Evaluating the Reliability and Relevance of in vitro Toxicity Data. *Front. Toxicology* 3:746430. doi: 10.3389/ftox.2021.746430

SAÚDE, Ministério da. DIRETRIZES METODOLÓGICAS Sistema GRADE – manual de graduação da qualidade da evidência e força de recomendação para tomada de decisão em saúde. Brasília: Eliana Carlan (Decit/Scie/Ms) Jessica Alves Rippel (Decit/Scie/Ms), 2014. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/ct/PDF/diretriz_do_grade.pdf. Acesso em: 03 nov. 2022.

SUJOGYA, K. P. et al. Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological investigations of *tetradenia riparia* (hochst.) codd (lamiaceae). Leuven: *Front Pharmacol*, 2022.

TERRON-MONICH, Mariana de Souza et al. 6, 7-Dehydroroyleanone diterpene derived from *Tetradenia riparia* essential oil modulates IL-4/IL-12 release by macrophages that are infected with *Leishmania amazonensis*. *Parasitology research*, v. 118, n. 1, p. 369-376, 2018.

VAN PUYVELDE, Luc et al. Active principles of *Tetradenia riparia*. I. Antimicrobial activity of 8 (14), 15-sandaracopimaradiene-7 α , 18-diol. *Journal of ethnopharmacology*, v. 17, n. 3, p.269-275, 1986.

VAN PUYVELDE, Luc et al. Active principles of *Tetradenia riparia*. IV. Anthelmintic activity of 8 (14), 15-sandaracopimaradiene-7 α , 18-diol. *Journal of ethnopharmacology*, v. 216, p. 229-232, 2018.

YORK, T.; VAN VUUREN, S. F.; DE WET, H. An antimicrobial evaluation of plants used for the treatment of respiratory infections in rural Maputaland, KwaZulu-Natal, South Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 144, n. 1, p. 118-127, 2012.