



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CAMPUS SOBRAL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

ERIVAN FERREIRA ALVES

**Atividade antimicrobiana e anti-helmíntica *in vitro* do extrato
etanólico do tegumento da amêndoa de *Anacardium occidentale* L.**

SOBRAL

2019

ERIVAN FERREIRA ALVES

Atividade antimicrobiana e anti-helmíntica *in vitro* do extrato
etanólico do tegumento da amêndoa de *Anacardium occidentale* L.

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Biotecnologia, da
Universidade Federal do Ceará, como
requisito à obtenção do título de Mestre em
Biotecnologia. Área de concentração:
Biotecnologia. Linha de Pesquisa:
Bioprospecção de Produtos Naturais e
Sintéticos.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Maranguape
Silva da Cunha.

SOBRAL

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A478a Alves, Erivan Ferreira.

Atividade antimicrobiana e anti-helmíntica in vitro do extrato etanólico do tegumento da amêndoa de *Anacardium occidentale* L. / Erivan Ferreira Alves. – 2019.

81 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Sobral, 2019.

Orientação: Prof. Dr. Rodrigo Maranguape Silva da Cunha.

1. Caju. 2. Extrato etanólico. 3. Antimicrobiano. 4. Anti-helmíntico. I. Título.

CDD

660.6

ERIVAN FERREIRA ALVES

Atividade antimicrobiana e anti-helmíntica *in vitro* do extrato etanólico do tegumento da amêndoa de *Anacardium occidentale* L.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. Área de concentração: Biotecnologia. Linha de Pesquisa: Bioprospecção de Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Maranguape Silva da Cunha.

Aprovada em: 29/05/2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rodrigo Maranguape Silva da Cunha (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Raulzito Fernandes Moreira
Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA)

Prof. Dr. Victor Alves Carneiro
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

À minha família.

À minha avó Francisca Ferreira Cunha Melo
(*In memoriam*) por todos os ensinamentos, a
humildade, bondade, honestidade e toda a
contribuição para o caráter que tenho hoje.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo milagre da vida em todas as suas formas e por toda sua soberania gerada por este amor incondicional por nós. Ao cosmos e à inteligência superior, proveniente da criação deste ser supremo que criou o universo e tudo que nele há, deu condições físicas e químicas para a existência desta civilização, e possivelmente de outras também. O sincronismo e harmonia que a imensidão do universo é capaz de gerar, criar, modificar, transformar e destruir. Aos processos de fissão nuclear que criaram matéria e energia, condições extremas e controle da entropia para que a vida neste minúsculo planeta exista da forma como é.

A toda a família do Núcleo de Biotecnologia de Sobral (NUBIS) e aos egressos: Aurilene Cajado, Bruno Carneiro, Carlos Franciney, Daniel Brito, Flávia Muniz, João Garcia, Jedson Aragão, Marcela Paiva, Mônica Valéria, Nyanne Hardy, Pedro Paulo, Rafael Bastos, Vitória Virgínia, Dauana Mesquita, Deysiane Fernandes. E aos ativos: Francisco, Jorzana, Paulo e Nívea Maria. Muito obrigado por todo o conhecimento e companheirismo compartilhado ao longo destes anos, em especial ao Carlos, Dauana, Flávia, João, Nyanne, Vitória e aos que muito ajudaram para a conclusão deste trabalho e se empenharam neste final, em especial o Francisco, Jorzana, Nívea e Paulo. Gratidão resume o sentimento e espaço que todos conquistaram e o orgulho de ter feito parte deste núcleo. O respeito adquirido vai além do ambiente profissional. Contento-me com a certeza do sucesso de cada um que tive o prazer de conhecer e tê-los usado como fonte inspiradora na conquista do grau de conhecimento e maturidade que tenho hoje.

Ao Dr. João Garcia Alves Filho, por todo conhecimento compartilhado e toda sua genialidade.

A todas as pessoas de outros laboratórios que sempre estiveram à disposição para ajudar no que fosse necessário, em especial à Rafaela, por todo o suporte necessário para a realização deste trabalho. E também a Maria, Bianca, Laís, Ludmila, Francisco e todas as pessoas que contribuíram de forma direta ou indireta, todos vocês foram essenciais para que tudo funcionasse.

Aos amigos colaboradores do Centro Universitário UNINTA pelo apoio técnico e intelectual nas pessoas de Mateus Gomes e Gleice, por toda ajuda e contribuição.

Ao amigo e quase irmão tático André Amadeu pelos momentos operacionais de retirada de estresse, seja no estande de tiro, seja dentro de casa mesmo.

Aos meus gatos, pelo sentimento mais verdadeiro que humano nenhum consegue copiar, em especial ao Frem-uhm, Brancuda, Brancudo (*In memoriam*), Cangaceiro e aos Mini-

mús.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Maranguape Silva da Cunha, por tudo que tem nos doado em termos de conhecimento, conselhos e paciência. Sempre apoiando seus alunos com aquele espírito de profissional e amigo, pessoa que gosta do que faz. Muito obrigado pela excelente orientação.

A professora Dra. Lúcia Betânia, por todo o apoio técnico, intelectual e toda ajuda para a realização deste trabalho.

Aos professores participantes da banca examinadora, Dr. Raulzito Fernandes Moreira e Dr. Victor Alves Carneiro, pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões. Aos colegas da turma de mestrado, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas.

A todos os cientistas e pesquisadores brasileiros, que, mesmo diante de todas as adversidades do sistema, seguem essa luta árdua em defesa da ciência.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) Código de Financiamento 001.

“Inteligência é a capacidade de se adaptar a mudanças. A genialidade é antes de tudo a habilidade de aceitar a disciplina”.

Stephen Hawking

RESUMO

Anacardium occidentale Linn é uma planta nativa do Brasil, comercialmente explorada, assim como na medicina popular, por ter propriedades farmacológicas comprovadas. Sua ação antimicrobiana tem sido estudada como alternativa ao tratamento de infecções bacterianas e ao controle de parasitos gastrointestinais, visto que há resistência às terapias convencionais. Dentre as infecções bacterianas mais comuns, destacam-se aquelas em que há presença de biofilmes, pois esta associação potencializa a virulência e a sua capacidade de resistência, culminando em dificuldades no controle e erradicação. Bem como o problema que envolve parasitos gastrointestinais, sendo estes responsáveis por afetar um grande número de pessoas em condições precárias de saneamento e por causar grandes perdas econômicas no setor agropecuário. O uso de produtos naturais oriundos do metabolismo secundário vegetal tem se mostrado eficiente contra estes problemas por sua variedade de biomoléculas que possuem atividade biológica. Desta forma, este trabalho objetivou investigar a presença de potencial biotecnológico no extrato etanólico do tegumento da amêndoa de *A. occidentale* L., visando aplicações antimicrobianas e anti-helmínticas. Para isto, foi realizada a triagem fitoquímica, evidenciando diversas classes de metabólitos secundários. Testes de concentração inibitória mínima, concentração bactericida mínima e antibiofilme foram realizados em bactérias gram-positivas e gram-negativas, além de leveduras do gênero *Candida*. Os testes com bactérias que apresentaram melhores resultados foram observados em gram-positivas, entretanto, houve alterações no crescimento das demais cepas testadas. Verificou-se, também, a redução na produção de biofilme. O teste de mortalidade realizado com *Caenorhabditis elegans* obteve a DL50 para a linhagem sensível na concentração de $97,32 \pm 10,9 \mu\text{g/mL}$, e para a linhagem resistente à Ivermectina (IVR15) a DL50 de $128,6 \pm 13,6 \mu\text{g/mL}$. A toxicidade do composto foi mensurada frente a *Artemia salina*, apresentando uma DL50 de $46,96 \mu\text{g/mL}$. Mesmo se tratando de um extrato, estes achados despertam grandes expectativas quanto aos constituintes presentes e em seu uso como insumo biotecnológico para a produção de novas drogas antimicrobianas e anti-helmínticas.

Palavras-chave: caju; extrato-etanólico; antimicrobiano; anti-helmíntico.

ABSTRACT

Anacardium occidentale L is a native plant from Brazil commercially exploited, widely used in folklore medicine and with pharmacological properties. Its antimicrobial action was under study as alternatives to the treatment of microbial infections and control of gastrointestinal parasites as resistance to conventional therapies. Among the most common infections are those which biofilms are present, enhancing their virulence and resistance culminating in difficulties to control and eradicate it. Another issue involves gastrointestinal parasites responsible for affecting numerous people in precarious sanitation conditions, as well as losses in the husbandry sector. The use of natural products derived from secondary plant metabolism shown to be efficient against these problems due to its variety of biomolecules with biological activity. This work aimed to investigate the presence of biotechnological potential of *A. occidentale* L cashew nut integument extract for antimicrobial and anthelmintic applications. For this, several classes of secondary metabolites evidenced by phytochemical screening. Minimum inhibitory concentration, minimal bactericidal concentration and antibiofilm tests were performed on gram-positive and gram-negative bacteria, in addition to candida yeasts. The best results were observed in gram-positive bacteria. However, the growth for the other organisms were also affected. In the antibiofilm test, all presented a decrease in their production. In the mortality test against *C. elegans* the extract presented anthelmintic effect with LD₅₀ of $128,6 \pm 13,6$ µg/mL for IVR15 and 0.018 µg/mL for N2. The toxicity of the compound was measured against *Artemia salina*, having an LD₅₀ of $97,32 \pm 10,9$ µg/mL. Even though it is an extract, these findings raise great expectations regarding the constituents and their use as biotechnological inputs for the production of new antimicrobial and anthelmintic drugs.

Keywords: cashew; ethanolic extract; antimicrobial; anti-helminthic.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Corte longitudinal da castanha de caju	21
Figura 2: Representação da composição do biofilme bacteriano	31
Figura 3: Representação esquemática para determinação de CIM	44
Figura 4: Representação esquemática da metodologia de quantificação de biofilme dos micro-organismo, em placas de poliestireno de 96 poços.....	45
Figura 5: Esquema de preparação e execução de teste de letalidade em <i>Artemia salina</i>	46

LISTA DE TABELAS E /OU QUADROS

Tabela 1: Fitoquímicos presentes no extrato do TCC	48
Tabela 2: Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) em µg/mL do extrato etanólico do TCC contra bactérias gram-positivas e gram-negativas e fungos do gênero <i>Candida</i>	49

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Efeito antibiofilme em bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungo do gênero <i>Candida</i>	50
Gráfico 2: Teste de mortalidade larvar utilizando extrato etanólico do TCC em <i>Caenorhabditis. elegans</i>	51
Gráfico 3: Teste de toxicidade avaliado em <i>Artemia salina</i> após 48h em contato com o extrato do Tegumento da castanha de caju.	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CCP 76	Clone Cajueiro Pacajus (Genótipo 76)
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
D.B.O	Demanda Bioquímica de Oxigênio
D.O	Densidade Óptica
<i>et al</i>	Colaboradores
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
LCC	Líquido da Casca da Castanha
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i> – Lipoproteína de baixa Densidade
mg	Miligrama
mL	Mililitro
nm	Nanômetro
NGM	<i>Nematode Growth Media</i>
SDB	Sabouraud Dextrose Broth
SDS	Dodecil Sulfato de Sódio
TCC	Tegumento da Castanha de Caju
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
μL	Microlitro
μg/mL	Microgramas por mililitro

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
+	Controle Positivo
-	Controle Negativo
+	Presente
-	Ausente
®	Marca Registrada
<	menor que
λ	Lambda

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1 Informações gerais do cajueiro.....	20
2.2 Metabolismo vegetal: primário e secundário	23
2.3 Micro-organismo de interesse clínico.....	27
2.4 Biofilmes microbianos	30
2.5 Problemas causados por nematoides.....	34
3. HIPÓTESE CIENTÍFICA	38
4. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA.....	39
5. OBJETIVO GERAL	40
5.1 Objetivos Específicos	40
6. METODOLOGIA.....	41
6.1 Obtenção do tegumento da amêndoa	41
6.2 Preparação do Extrato Etanólico	41
6.3 Testes Fitoquímicos.....	41
6.4 Ensaio biológicos.....	42
6.5 Cepas microbianas.....	42
6.6 Preparação do extrato para os testes biológicos.....	42
6.7 Condições de cultivo e crescimento dos microrganismos	42
6.8 Linhagem <i>Caenorhabditis elegans</i> sensível (Bristol N2) e resistente à Ivermectina (IVR ₁₅).....	43
6.9 Ensaio de atividade antimicrobiana CIM e CBM.....	43
6.10 Ensaio de atividade antibiofilme	44
6.11 Teste de mortalidade em <i>Caenorhabditis elegans</i> N2 e IVR ₁₅	45
6.12 Teste de toxicidade em <i>Artemia salina</i>	45
7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	47

8. RESULTADOS	48
8.1. Testes Fitoquímicos	48
8.2. Teste de Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima	48
8.3 Efeito antibiofilme	49
8.4 Teste mortalidade em <i>C. elegans</i> N2 e IVR15	51
8.5 Teste de toxicidade frente a <i>Artemia salina</i>.	51
9. DISCUSSÃO	52
10. CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS	59

1 INTRODUÇÃO

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), espécie vegetal amplamente difundida no Brasil, em especial na região Nordeste do país, apresenta-se como um importante meio para o desenvolvimento socioeconômico desta região. Isto se deve a sua exploração comercial, a qual possui alto valor agregado devido a diversidade de produtos que podem ser extraídos, dentre eles, o principal, a castanha de caju (FREIRE *et al.*, 2018; Serrano; Pessoa, 2016).

De forma a acompanhar as exigências do mercado externo, essa planta tem passado por métodos de melhoramento genético que visam a produção de espécimes com características de resistência a condições de estresse ambientais, como o baixo índice pluviométrico, solo salino e temperaturas elevadas (PAIVA *et al.*, 1992). Esta busca por um padrão superior visa, principalmente, a produção de castanhas com tamanhos maiores, refletindo no aumento da produção e em amêndoas de maior qualidade (NETO *et al.*, 2018). A propagação vegetativa através da produção de clones é o método mais utilizado para este fim, sendo selecionadas as melhores características das variações de cajueiro gigante e cajueiro anão precoce, conferindo maior qualidade e aumento produtivo (BOMTEMPO; SILVA, 2018).

Além dos vários usos e de seus diversos subprodutos, *A. occidentale* L. também se apresenta como uma importante planta para a medicina popular. Sendo utilizada contra diversas enfermidades, seja em forma de chás, emulsão em água, xaropes, entre outras (AJILEYE *et al.*, 2015; FREIRE *et al.*, 2018). Diante desses usos, o potencial desse vegetal já foi confirmado por meio de pesquisas direcionadas nas áreas de parasitologia e microbiologia (ARAÚJO *et al.*, 2018; LOPES *et al.*, 2018). Tem-se demonstrado como uma alternativa eficaz no tratamento de infecções causadas por micro-organismos e no controle de parasitos, uma vez que o tratamento convencional tem promovido a seleção de organismos resistentes (FREIRE *et al.*, 2018).

Uma das formas de resistência desenvolvida por micro-organismos se trata de estruturas complexas organizadas como biofilmes. Desta forma, as células localizadas em camadas mais internas ficam protegidas, não sofrendo ação dos antimicrobianos. Estes não possuem uma boa penetração, bem como as interações entre os elementos da própria matriz do biofilme e o antibiótico (BARROS, 2017).

Com relação aos parasitos, os danos não se restringem apenas à saúde humana, atingindo também animais domésticos e, principalmente, o setor agropecuário. Este último sofre grandes perdas econômicas em sua produtividade devido às parasitoses que

acometem o sistema gastrointestinal de animais de produção e aos nematoides que parasitam as raízes, competindo com a planta por nutrientes (PALOQUE *et al.*, 2018). Isto reflete muito na economia, pois afeta a cadeia produtora, gerando custos extras nos processos de produção. Esse fenômeno gera a necessidade de se buscar novos meios que evitem essa perda produtiva (TALWANA *et al.*, 2016). Nas últimas décadas, as buscas por soluções a tais problemas têm se concentrado em produtos naturais de origem vegetal, devido à diversidade de substâncias e seus potenciais efeitos (VITA *et al.*, 2019).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Informações gerais do cajueiro

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), pertencente à família anacardiácea, é uma espécie originária das regiões tropicais da América do Sul e predominante em grande parte dos estados brasileiros, em especial na região Nordeste (LOPES *et al.*, 2017). Devido a sua capacidade adaptativa a solos de baixa fertilidade, temperaturas elevadas e estresse hídrico, esta planta é considerada uma importante fonte de renda, ajudando no desenvolvimento socioeconômico da região Nordeste do Brasil. Apresenta importante interesse internacional por conta da exportação de castanha, além de sua produção interna de subprodutos oriundos de seu pseudofruto, o caju (FREIRE *et al.*, 2018; SERRANO; PESSOA, 2016).

Com relação à variabilidade genética, o cajueiro é dividido de acordo com o porte, sendo ele: comum ou anão. O comum, também chamado de gigante, apresenta porte elevado com altura variando de 8 a 15 metros, sua envergadura pode chegar a 20 metros e sua ocorrência se dá de forma natural. Já o anão é caracterizado por baixo porte e apresenta precocidade de florescimento em relação ao gigante, esse provém de seleções fenotípicas de cajueiros comuns de baixo porte (ALMEIDA *et al.*, 2017).

Embora o cajueiro comum seja o mais cultivado, sua produção varia bastante de 1 até 100 kg por safra. O cajueiro anão precoce, ainda que sua produção máxima seja 43 kg/safra, destaca-se pela quantidade de exemplares por hectare (YOKOMIZO *et al.*, 2018).

Com as exigências do mercado e a demanda cada vez mais alta por produtos do cajueiro, em especial a castanha para exploração comercial, tem-se requerido a produção de genótipos adaptados a diferentes condições de clima e solo. Desta forma, o melhoramento genético do cajueiro oferece vantagens por conferir características benéficas aos espécimes trabalhados (PAIVA *et al.*, 1992). A propagação vegetativa por enxertia proporciona uniformidade de características dos cajueiros, possibilitando a obtenção de castanhas e amêndoas de maior tamanho e qualidade, refletindo maior preço internacional (NETO *et al.*, 2018).

A Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA) tem investido em pesquisas para a produção de diversos genótipos de cajueiro por meio da propagação de clones. Isso, em busca de obter espécimes com maiores qualidades e produtividade, melhorando seu desempenho para maior exploração comercial (NETO *et al.*, 2018; PAIVA; BARROS, 2003). Existem, atualmente, muitas variações de cajueiro obtidas através de

clones, cada qual com características peculiares referentes à produção, tamanho da castanha, qualidade do pedúnculo e, talvez, uma das características mais importante da planta, a sua capacidade adaptativa a diferentes ambientes (VIEIRA *et al.*, 2011).

O clone de cajueiro-anão-precoc “CCP 76” (Clone Cajueiro Pacajus) é um exemplo de adaptação a diferentes ambientes. Por esse motivo, é cultivado em muitas regiões do Brasil e tem se mostrado como padrão de excelência entre os demais, sendo o mais plantado por conta de sua atratividade e qualidade do pedúnculo, pois possui alto teor de sólidos solúveis e reduzido teor de taninos (NETO *et al.*, 2013). Ele surgiu a partir da planta matriz CP 76 (Cajueiro Pacajus), oriunda de plantas CP 06 as quais foram introduzidas por semente e avaliadas por 15 anos antes de sua disponibilidade no mercado (VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010).

A exploração dos produtos do cajueiro compreende um conjunto de atividades geradoras de um grande número de produtos intermediários e finais, sendo a amêndoa da castanha do caju um dos principais produtos. Outros produtos, como o líquido da castanha, possuem elevado valor na indústria, juntamente com o pedúnculo usado na fabricação de sucos, vinhos, refrigerantes, doces e rações para animais (YOKOMIZO *et al.*, 2018).

A “Cajucultura” movimenta uma cadeia produtiva considerável na vida de pequenos e grandes produtores no meio rural da região Nordeste do Brasil. Estima-se que ocorra a geração anual de cerca de 250 mil empregos diretos e indiretos. A relevância é ainda maior por conta de a demanda por mão de obra coincidir com o período de entre safras da maioria de outras culturas de subsistência (SERANO; PESSOA, 2016).

Seu fruto verdadeiro, a castanha de caju, é considerada a parte mais importante de sua cadeia produtiva por conta de seu valor de mercado. É um aquênio reniforme de cor marrom-acinzentada, composto pelo pericarpo e pela amêndoa. O pericarpo é constituído por três camadas: epicarpo, mesocarpo e endocarpo (SERANO; PESSOA, 2016). (Figura 1).

Figura 1: Corte longitudinal da castanha de caju.



Fonte: Autor

O mesocarpo é uma camada intermediária localizada abaixo do epicarpo, apresentando aspecto esponjoso, cujos alvéolos são preenchidos por um líquido cáustico e

inflamável – o líquido da casca da castanha (LCC). Esse líquido apresenta aproximadamente 25% do peso total da castanha e tem seu uso empregado na indústria química para a produção de polímeros que são utilizados na produção de materiais plásticos, isolantes, vernizes, inseticidas e fungicidas (AGOSTINI-COSTA *et al.*, 2018; OSMARI *et al.*, 2015).

A amêndoa, principal produto comercial do cajueiro, apresenta elevado valor nutritivo composto por proteínas, lipídios, carboidratos, fósforo, ferro, zinco, magnésio e fibras, que são elementos essenciais requeridos na dieta humana, além de apresentar, também, gorduras insaturadas que contribuem para a diminuição do nível de colesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*) no sangue (NEVES *et al.*, 2015). Estes nutrientes apresentam papéis restauradores à saúde e seu consumo tem sido sugerido como uma fonte natural de antioxidantes muito importantes no combate aos radicais livres, pois estão intimamente envolvidos em muitos processos patológicos (CHANDRASEKARA; SHAHIDI, 2011).

Outro ponto positivo além da questão nutricional promovida por meio de seus macronutrientes, diz respeito a presença de compostos fitoquímicos com características antioxidantes de grande relevância, agindo contra muitas espécies reativas danosas ao sistema celular (ALASALVAR *et al.*, 2015).

Metabólitos secundários como os encontrados em nozes e oleaginosas são ricos em polifenóis que são considerados um dos principais compostos bioativos para benefícios à saúde e tem seu consumo associado a redução nos riscos de doenças cardiovasculares e câncer (CHANDRASEKARA; SHAHIDI, 2011; DEAN, 2018).

A amêndoa da castanha de caju é envolvida por um tegumento, nesta fina camada há presença de α -catequina, β -sitosterol, 1-epicatequina, proantocianidina leucocianidina e leucopelargonidina, alcaloide e compostos fenólicos como taninos e flavonoides e seus derivados (IWU, 2014). Este tegumento é removido durante o processamento industrial, reduzindo substancialmente estes elementos na amêndoa (ALASALVAR *et al.*, 2015; OLIVEIRA, 2016; PAIVA *et al.*, 2000).

Além dos aspectos econômicos gerados pela exploração comercial do cajueiro, outras atividades relacionadas ao uso de suas propriedades fitoterápicas são bem exploradas de forma empírica na medicina popular, por meio do uso de suas partes na elaboração de chás, xaropes e emulsão em água. Estes são empregados no tratamento de doenças infecciosas, inflamatórias, desordens gastrointestinais e condições de estresse oxidativo (AJILEYE, *et al.*, 2015).

Na literatura, há relatos de sua ação farmacológica como inibidor da acetilcolinesterase e tirosinase, bem como o seu fator anticancerígeno apresentado por

compostos extraídos de suas diferentes partes contra várias linhagens de células cancerígenas, agindo em proteínas relacionadas à apoptose (GONÇALVES; GOBBO, 2012; ZHANG, 2016). Estudos apontam ainda para o grande potencial terapêutico do cajueiro frente a muitos micro-organismos patogênicos, sendo de grande relevância as pesquisas nesta área por conta dos inúmeros prejuízos que são gerados por tais organismos (ARAÚJO *et al.*, 2018; BAPTISTA *et al.*, 2018).

A atividade antimicrobiana do cajueiro tem sido estudada com o intuito de se obter fontes alternativas no tratamento de diversas infecções (FREIRE *et al.*, 2018). Em testes *in vitro* utilizando extratos da casca do caule de *A. occidentale* L., bem como suas folhas, foram comprovadas sua ação inibitória e bactericida contra micro-organismos patogênicos formadores de biofilme dental (ARAÚJO *et al.*, 2018; CAJADO *et al.*, 2016), além de atividade antimalárica (GIMENEZ *et al.*, 2019). Muitos desses resultados provêm da ação de metabólitos secundários como os taninos e outros compostos extraídos da planta, conferido pela sua capacidade de precipitar proteínas importantes à sobrevivência do micro-organismo (BAPTISTA *et al.*, 2018; PEREIRA *et al.*, 2015).

Dentro desse contexto, a investigação científica com plantas medicinais abrange inúmeros aspectos importantes de caráter inter e multidisciplinar. Isso permite aos pesquisadores uma maior abrangência e riqueza de conhecimento a respeito de seus constituintes e seu emprego nos mais diversos campos do mercado (SILVA *et al.*, 2017).

2.2 Metabolismo vegetal: primário e secundário

Durante todo o seu ciclo de vida, as plantas estão expostas a diversas mudanças e fatores ambientais que provocam estresse e comprometem o seu desenvolvimento. Devido a isso, para suportar determinadas condições, muitas estratégias metabólicas são sinalizadas de forma a controlar e impedir maiores danos provocados ao organismo por conta de adversidades desfavoráveis do meio ambiente (LE GALL *et al.*, 2015; ZHU, 2016).

O metabolismo vegetal pode ser dividido em metabolismo primário e secundário. O primeiro diz respeito ao conjunto de reações envolvidas em processos essenciais e vitais. Processos esses, comuns e pouco variáveis em grande parte dos vegetais, levando à síntese de proteínas, carboidratos, lipídios, ácidos graxos, ácidos nucleicos. Compostos importantes para seu crescimento e desenvolvimento (GIL-CHÁVEZ *et al.*, 2013; OLIVEIRA, 2016; REZENDE *et al.*, 2016). Já o metabolismo secundário refere-se à produção de um amplo e diversificado sortimento de compostos orgânicos. Esses, em sua grande maioria, não estão

diretamente relacionados ao crescimento e desenvolvimento vegetal (CROTEAU *et al.*, 2000). Trata-se do metabolismo secundário, o qual pode ser definido como o conjunto de reações que levam à formação de produtos necessários para interações entre o vegetal e o ambiente (REZENDE *et al.*, 2016).

Esses produtos conferem proteção ao organismo vegetal contra adversidades abióticas, como a proteção à radiação ultravioleta, estresse hídrico, altas temperaturas, deficiência de nutrientes, excesso de sais e metais pesados ou biótico como proteção contra herbivoria, atração de polinizadores e defesa contra fitopatógenos (HÖLL *et al.*, 2018; LEONOV *et al.*, 2015; ZHU, 2016;).

Os metabólitos secundários das plantas podem ser distinguidos por aproximadamente três classes de compostos químicos, nomeadamente alcaloides, compostos fenólicos e terpenos, cada classe composta por milhares de compostos diferentes (CHOMEL *et al.*, 2016).

Em termos estruturais ou de famílias compostas, os metabólitos das plantas são extremamente diversos, bem como as suas concentrações podem ocorrer variações por diversos fatores (DEBORDE *et al.*, 2017). Tais variações na diversidade fitoquímica refletem as respostas nas variações a inimigos naturais, incluindo herbívoros especialistas e generalistas (RICHARDS *et al.*, 2015). Outros fatores externos, como variações temporais e espaciais, assim como as proporções relativas dos metabólitos secundários, podem ocorrer em diferentes níveis sazonais diários. Mesmo com o controle genético, podem sofrer modulações em sua expressão resultantes de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos (BARBOSA, 2015). Acredita-se que as plantas desenvolveram vias bioquímicas secundárias para sintetizar fitoquímicos como adaptação evolutiva para assim adaptar-se aos diferentes ecossistemas, aumentando suas chances de sobrevivência (LEONOV *et al.*, 2015).

Por conta desse grande sortimento, tais metabólitos apresentam uma ampla gama de aplicações comerciais em diversos setores tais como alimentos, cosméticos, farmacêuticos e biotecnologia industrial, além de possuir importantes funções ecológicas e agrônômicas através do fornecimento de insumos bioativos (THIMMAPPA *et al.*, 2014).

A importância comercial do metabolismo secundário reside nas mais diversas aplicações medicinais e farmacêuticas, como antimicrobiano, antiviral, antiulcerogênico, antineoplásico, citotóxico, anti-hipertensivo, hipolipidêmico e anti-inflamatório. Sendo utilizado também no setor alimentício, sendo crucial para saborizar nozes e oleaginosas, além de seu uso no melhoramento e modificações do sabor e aroma dos alimentos (BARBOSA *et*

al., 2017; DEAN, 2018; SILVA; BIESKI, 2018).

As plantas sintetizam compostos que contribuem para a saúde e sobrevivência humana. Só em relação aos medicamentos, mais de um terço teve sua origem a partir de produtos naturais oriundos dos processos de síntese do metabolismo vegetal. Exemplos disso, são os conhecidos como fitoterápicos, presentes em muitas formulações. Através da elucidação de seus mecanismos de ação, é possível direcioná-los para diversos fins terapêuticos (CHAE *et al.*, 2014; YUAN *et al.*, 2016).

Como exemplo bem-sucedido de desenvolvimento de drogas baseado em produtos naturais, temos a Artemisinina, encontrada em *Artemisia annua*. Entre todos os fármacos utilizados contra a malária, ela possui a mais rápida ação (YUAN *et al.*, 2016). O alcaloide Vimblastina extraído de *Catharanthus roseus* L., usada no tratamento de neoplasias age como antimitótico devido sua interação com a tubulina (LOPES, 2017). Existe também o *Panax ginseng*, conhecido, por suas propriedades restauradoras, tônicas e revitalizantes (SHIN; KNOW; PARK, 2015).

Entretanto, para que o uso de uma espécie ofereça segurança, é importante que a mesma seja estudada do ponto de vista químico, farmacológico, toxicológico, entre outros testes, de forma a proporcionar segurança e aceitação no setor farmacêutico (FRANCO; FERREIRA, 2011).

O conhecimento sobre a atividade biológica de um produto natural revelada através da triagem de metabólitos secundários é uma das etapas iniciais na pesquisa química. O mesmo visa conhecer as classes das quais pertencem os constituintes químicos naturais obtidos no processo de extração, podendo ser aplicado no manejo de pragas de forma direta ou indireta (CARRERA *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2017).

Dentre as várias aplicabilidades dos produtos gerados por esses processos, seu uso como ferramenta antimicrobiana é amplamente explorada em muitos trabalhos científicos. Essa importância se dá principalmente por sua vastidão de compostos químicos com amplo espectro de bioatividade em muitos organismos patogênicos (CIOCH *et al.*, 2017).

A maioria dos antibióticos disponíveis hoje possui como principal origem fontes microbianas e sintéticos, porém, muitas plantas desenvolveram inúmeras estratégias químicas de produção de compostos bactericidas para se protegerem do ataque dos micro-organismos (BORGES *et al.*, 2013; OLLÉ *et al.*, 2017). A exploração desses compostos em prol de benefícios à saúde humana e animal é um campo que tem crescido bastante nas últimas décadas. Muitas das descobertas são feitas por processos simples que visam evidenciar determinados potenciais dos compostos bioativos (KYAW *et al.*, 2012).

Com os avanços da biotecnologia, muitas técnicas e alternativas vêm sendo exploradas com a finalidade de se obter produtos que apresentem maior eficácia diante dos atualmente existentes, podendo assim chegar a novas terapias biológicas (GUSMÃO; SILVA; MEDEIROS, 2017).

A fitoquímica tem por finalidade o estudo das propriedades químicas de cada grupo da planta, desde sua estrutura química e molecular até suas propriedades biológicas. Objetivando com isso esclarecer e registrar os constituintes resultantes do metabolismo secundário, bem como elucidar suas estruturas químicas e moleculares através do seu isolamento e assim obter respostas referentes a seus princípios ativos dentre outras características (VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010). A eficácia dos fitoquímicos está relacionada à complexidade de suas propriedades químicas e estéricas tridimensionais bem organizadas, oferecendo diversas vantagens em termos de eficiência e seletividade diante de seus alvos moleculares (YUAN *et al.*, 2016).

Entre os principais agentes terapêuticos provenientes de tais produtos, os compostos fenólicos como flavonoides e taninos, destacam-se por apresentarem importantes atividades antioxidantes e anti-inflamatórias cruciais para a redução dos riscos de doenças neurodegenerativas. Isso ocorre porque elas agem como quimiopreventivo contra diversos processos patológicos e seu consumo está intimamente relacionado com a diminuição dos riscos de problemas cardiovasculares, distúrbios metabólicos e câncer (DIAS *et al.*, 2015; ZHANG, 2016).

Por conta de tamanha importância, esses compostos têm sido amplamente estudados e seus efeitos atribuídos a sua estruturação química específica, além de seus potenciais antimicrobianos já comprovados por meio de diversos estudos *in vitro* contra diversos organismos patogênicos (CAMACHO, 2017; ZHANG, 2016).

Os polifenóis são metabólitos secundários de ocorrência natural em todos os vegetais. São encontrados com destaque nas diversas partes do vegetal, como folhas, frutos e sementes. Eles apresentam uma enorme diversidade estrutural, incluindo ácidos clorogênicos, taninos hidrolisáveis e flavonoides, a maioria deles tem ocorrência em forma de glicosilados (MARÍN *et al.*, 2015).

Para desempenhar suas funções no organismo humano, os polifenóis precisam passar por transformações enzimáticas digestivas ou pela ação do metabolismo da microbiota. Assim, eles agem no organismo humano, sofrendo ações enzimáticas e finalmente atingindo seus alvos nos mais diversos órgãos, agindo como antivirais, antibacterianos e antiparasitários (MARÍN *et al.*, 2015).

Muitos constituintes químicos, como taninos extraídos do metabolismo vegetal, mostraram-se muito eficientes no combate a muitos organismos patogênicos. Os compostos formados entre taninos e proteínas são as bases para as propriedades inseticidas, antifúngicas, antibacterianas e anti-helmínticas (GONÇALVES; GOBBO, 2012). Além disso, micro-organismos dificilmente desenvolvem resistência a fitocompostos, pois geralmente agem por mecanismos de ação inespecíficos, podendo apresentar resultados até mesmo contra patógenos resistentes a múltiplas drogas (DIAS-SOUZA *et al.*, 2017).

Muitos testes feitos com extratos contendo taninos demonstraram possuir diversas atividades antibacterianas e antifúngicas. Esses potenciais farmacológicos podem ser atribuídos à complexação com íons metálicos, capacidade antioxidante e capacidade de interagir com macromoléculas como proteínas e polissacarídeos (CASTEJON, 2011; GONÇALVES; GOBBO, 2012).

O *screening* dos produtos do metabolismo secundário e seu estudo em micro-organismos *in vitro* proporcionam uma visão biológica e previsão terapêutica frente a diversos patógenos de considerável relevância clínica (FINKEL; MITCHELL, 2011).

2.3 Micro-organismo de interesse clínico

Em nosso meio, a presença de micro-organismos é um fator inevitável, uma vez que eles habitam os mais diversos ambientes. Muitos dos quais são benéficos a outros seres vivos, fazendo parte de sua microbiota natural, agindo de forma comensal. Entretanto, essa condição de comensalismo pode passar para parasitismo dependendo de muitos fatores, tanto do micro-organismo quanto do hospedeiro ou fatores ambientais (SILVA; DOMINGUES, 2017).

Os micro-organismos de interesse clínico oferecem muitos danos e prejuízos nos setores de saúde. Um dos fatores de maior relevância diz respeito à resistência microbiana aos antibióticos, pois pode reduzir substancialmente as opções de tratamento. Tornando-se um grande desafio para os profissionais da área estudarem novos métodos de controle e combate microbiológico (THEURETZBACHER, 2017).

Entre os grandes problemas enfrentados no ambiente hospitalar, as infecções nosocomiais são responsáveis por grandes incidências de contaminações e reinfecções de pacientes. São tidas também como importantes fatores de risco para sérios problemas de saúde que levam à morte (KHAN; AHMAD; MEHBOOB, 2015). Muitas dessas infecções ocorrem quando bactérias ou fungos migram para outras regiões do corpo diferentes de seu ambiente nativo, passando a colonizar estes locais elas geram problemas ao hospedeiro

podendo levar a sérias complicações de saúde (KHAN; BAIG; MEHBOOB, 2017).

Por muitas décadas o aumento de resistência microbiana aos agentes antimicrobianos tem crescido em níveis alarmantes, tornando-os insuficientes ao tratamento convencional. Essa resistência está atribuída ao uso excessivo de antibióticos e a transferência de genes resistentes dentro e entre organismos como respostas evolutivas (BORGES *et al.*, 2013). Muitas bactérias causadoras destas infecções mostraram ser potencialmente difíceis de controlar e erradicar, em especial em pacientes imunocomprometidos. Nesses, tem-se elevado as taxas de mortalidade devido ao comprometimento de suas funções imunológicas (TONG *et al.*, 2015).

Como um dos principais micro-organismos patogênicos, as bactérias gram-positivas são responsáveis por um amplo número de infecções nosocomiais, afetando os setores de saúde em todo o mundo. São infecções prevalentes em unidades de saúde e incluem principalmente as infecções da corrente sanguínea associadas a linha central, infecções no trato urinário associadas ao cateter e ainda aquelas adquiridas no centro cirúrgico e pneumonias associadas à ventilação mecânica (KHAN; BAIG; MEHBOOB, 2017).

Muitas bactérias de hábitos comensais, como no caso de *Staphylococcus aureus*, podem se tornar patogênicas sob condições de disfunção imune. Diante disso, podem causar várias infecções, desde as mais simples, como na mucosa localizada, até as sistêmicas graves, com altas taxas de morbidade e mortalidade (FOSTER *et al.*, 2014; SCHLECHT *et al.*, 2015).

Várias infecções gram-positivas provaram ser particularmente difíceis de tratar com terapias antibióticas. Isso por conta de seu alto nível de resistência aos compostos antimicrobianos (O'TOOLE, *et al.*, 2000). Outra questão a torna ainda mais importante quando estas infecções atingem níveis preocupantes, como nos casos de pneumonia e sepse, aumentando os riscos de vida ao paciente (MROCHEN *et al.*, 2018).

Micro-organismos desse tipo têm sido relatados como um dos principais patógenos relacionados a uma série de problemas infecciosos em muitos países industrializados. Sendo a causa mais abundante de infecções hospitalares e, em consequência do alto encargo financeiro, acabam causando prejuízos nos sistemas de saúde pública em todo o mundo (RIGBY; DELEO, 2012).

A apresentação quanto à propagação de infecções e o tratamento adequado tem gerado preocupações em diversos campos da saúde. Isso acontece por conta dos altos níveis de resistência bacteriana que os patógenos vêm apresentando para a maioria dos antibióticos (IWAMOTO *et al.*, 2013; LAKHUNDI; ZHANG, 2018). Além disso, muitas estratégias de

evasão imune são observadas, como em *S. aureus*, o que garante sua fuga das respostas imunológicas do hospedeiro e também por meio da liberação de toxinas ou modulação de mecanismos importantes na defesa do hospedeiro (KIM *et al.*, 2012).

Fora isso, outros patógenos de interesse clínico são destaque por conta de suas características altamente adaptativas e capacidade de aquisição de resistência aos antimicrobianos por vários mecanismos (KAYE; POGUE, 2015).

Um exemplo bem comum está na *Escherichia coli*, que é um membro importante da microflora intestinal natural em humanos e outros mamíferos, sendo inofensivo quando habitando seu ambiente nativo. Entretanto, dependendo de fatores de virulência, a *E. coli* pode causar muitos problemas intestinais e extraintestinais, levando a sérias complicações (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004). Embora essa relação não afete o organismo hospedeiro em condições normais, nos casos de indivíduos imunocomprometidos podem ocorrer diversos problemas. Pois existe um lado alternativo para *E. coli* proporcionado através do ganho e perda de genes. Isso permite que esse patógeno seja altamente diversificado e adaptado, podendo assim colonizar desde o trato gastrointestinal até outros ambientes como trato urinário, corrente sanguínea e sistema nervoso central (CROXEN *et al.*, 2013).

As bactérias como a *Serratia sp* e *Salmonella sp*, entre outras, também se apresentam mais prevalentes em hospitais e centros cirúrgicos, chegando a causar um grande número de infecções (DANTAS; SANTOS, 2016). Muitas dessas bactérias são benéficas quando em condição de comensalismo, a exemplo temos *Streptococcus salivarius* como um dos primeiros organismos colonizadores da cavidade oral e do intestino humano. Contribuindo assim para o equilíbrio e estabelecimento imunológico (KACI *et al.*, 2014; WINTER *et al.*, 2013). Entretanto, mudanças na homeostase do organismo hospedeiro, podem favorecer a proliferação desses organismos e assim ativar seu lado patógeno, podendo levar a sérias complicações médicas (DELORME *et al.*, 2015).

Existem ainda processos infecciosos ocasionados não apenas por bactérias, mas fungos também fazem parte da grande problemática das infecções hospitalares. As infecções fúngicas são responsáveis pela elevada taxa de morbidade e mortalidade em hospitais de todo o mundo (SILVA *et al.*, 2017). Dentre essas infecções, as espécies de *Candida* têm um papel importante na patologia humana por conta dos sérios efeitos provocados no hospedeiro. Os efeitos vão desde distúrbios nas mucosas superficiais que não ameaçam a vida, até doenças invasivas que podem se disseminar por vários órgãos, tornando-se particularmente preocupantes (BROWN *et al.*, 2012).

Candida albicans é um fungo dimórfico, podendo exibir crescimento em forma de levedura, pseudo-hifa ou hifa verdadeira, dependendo das condições ambientais. A espécie desse gênero é a mais abundante em humanos com características comensais que, em condições normais e indivíduos saudáveis, colonizam as membranas da mucosa e pele (NETEA *et al.*, 2015).

Outra característica desse organismo é sua capacidade de sobreviver como comensal em locais distintos do organismo hospedeiro, mesmo cada local possuindo características e pressões ambientais distintas. Essa capacidade implica no grande número de doenças causadas por *C. albicans*, excedendo o da maioria de outros micro-organismos comensais (CALDERONE; FONZI, 2001). Além disso, vários fatores de virulência, como dimorfismo, adesinas, produção de enzimas, capacidade de adaptar-se a variações de temperaturas, dentre outros mecanismos, fazem dessa espécie de fungo um patógeno muito versátil, poderoso e de difícil controle (CORRÊA *et al.*, 2017).

Outra espécie de *Candida*, a *C. tropicalis*, é bem importante no ambiente hospitalar. Isso por sua alta capacidade de aderir e formar biofilmes em diferentes dispositivos médicos, bem como adesão, invasão e capacidade de danificar tecidos internos por conta de sua produção de enzimas proteolíticas (NEGRI *et al.*, 2016).

O interesse voltado à questão dos fatores de virulência desse organismo constitui importante meio para o desenvolvimento de novas terapias e produção de fármacos para o tratamento de patologias oriundas de fungos do tipo (CARDOSO, 2013).

2.4 Biofilmes microbianos

A maioria dos micro-organismos vive geralmente em comunidades densamente povoadas. A forma de vida em comunidade confere propriedades altamente invasivas a organismos oportunistas por fornecer condições essenciais para o sucesso na colonização de diversos substratos, além de conferir proteção, resistência e aumento da virulência (DRESCHER *et al.*, 2014).

A importância dessa formação é tamanha que os biofilmes são considerados um dos modos de vida amplamente distribuídos e mais bem-sucedidos da terra. São encontrados em todos os organismos superiores, podendo estar associados a infecções em plantas e animais, bem como contaminando dispositivos médicos e implantes (FLEMMING *et al.*, 2016).

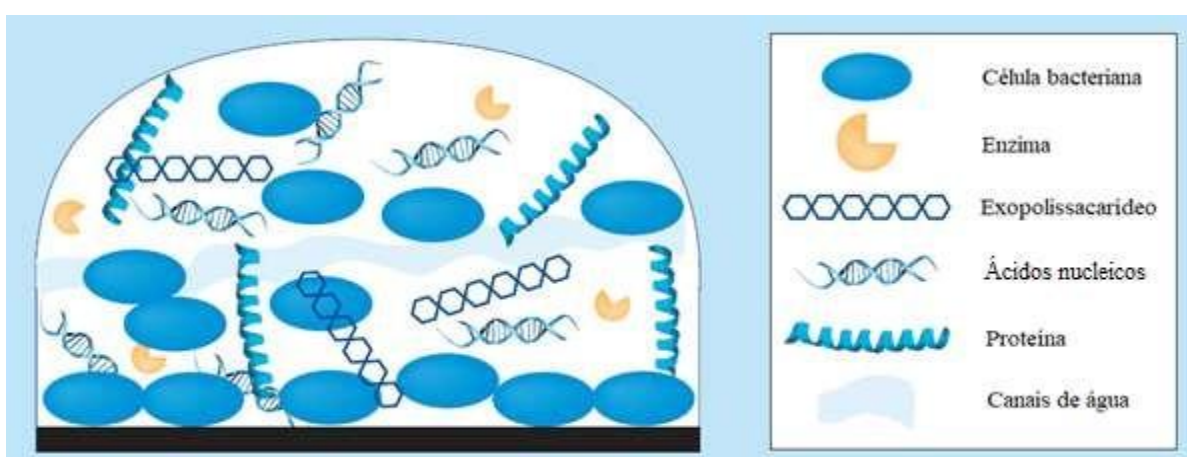
Biofilmes são comunidades de micro-organismos ligados a uma superfície biótica ou abiótica incorporada em uma matriz exopolimérica. São consórcios microbianos

onipresentes que asseguram a resistência efetiva das células constituintes aos impactos ambientais e às respostas imunes do hospedeiro (BAIDAMSHINA *et al.*, 2017).

Bactérias incorporadas em biofilmes são várias ordens de magnitude mais resistentes aos antimicrobianos do que as que estão em forma planctônica. As condições garantidas pela organização complexa proporcionam uma taxa aumentada de troca gênica e, conseqüentemente, aumento da tolerância aos antimicrobianos (RABIN *et al.*, 2015).

A composição da matriz que forma o biofilme é basicamente constituída por um ou mais polissacarídeos, ácidos nucleicos, proteínas, enzimas, lipídeos, íons minerais e vários detritos celulares (Figura 2).

Figura 2: Representação da composição do biofilme Bacteriano.



Fonte: (Adaptado de Rabin *et al.*, 2015).

Essa composição é responsável por assegurar diversas funções à célula bacteriana, garantindo seu sucesso na colonização de muitos substratos (LEROY *et al.*, 2008; RABIN *et al.*, 2015). Por conta dos constituintes da matriz, muitas drogas usadas no tratamento de infecções não conseguem atingir seu efeito *in vivo*, uma vez que ocorrem interações entre o antimicrobiano e componentes da matriz, impossibilitando sua difusão e conseqüentemente reduzindo sua eficácia (BATONI *et al.*, 2016).

A formação dessa estrutura organizacional tridimensional é um fator de sobrevivência, pois, através dela, muitos micro-organismos formadores de biofilme se desenvolvem. Isso faz com que as colônias ali presentes adquiram características peculiares. Implicando em dificuldades no tratamento, fazendo com que os métodos convencionais sejam insuficientes (BRAVO, 2016; SHAGAGHI *et al.*, 2016). Essa organização é considerada uma fonte perpétua de infecções nosocomiais. Por isso, são responsáveis por mais de 50% das infecções hospitalares por meio da colonização de dispositivos médicos

utilizados durante o tratamento em pacientes (THALLINGER *et al.*, 2013; ROY *et al.*, 2018).

A formação do biofilme é um processo complexo e dinâmico e pode ser dividido em pelo menos três eventos principais. O primeiro é a fixação inicial, seguido pela maturação e depois pela dispersão. Esses processos demandam alto custo energético, dependem da disponibilidade de nutrientes, da síntese e secreção de material extracelular e diversos outros fatores envolvidos em sua formação (FLEMMING *et al.*, 2016; LISTER; HORSWILL, 2014).

O crescimento do biofilme e fixação se inicia quando células planctônicas se aderem a uma superfície e passam a secretar componentes da matriz extracelular. Sua expansão ocorre quando as células aderentes passam por divisão e tendem a se difundir para locais em que há condições satisfatórias de nutrientes. Lá, as células passam por um processo adaptativo com o aumento da síntese de exopolissacarídeos (NADELL *et al.*, 2015).

Problemas infecciosos oriundos de biofilmes bacterianos são rotineiros nas unidades de tratamento de saúde e causam muita preocupação aos profissionais da área. No geral, as infecções associadas aos biofilmes podem ser divididas em duas categorias principais. A primeira envolve a sua formação em tecidos do hospedeiro; a segunda está relacionada à colonização de superfícies abióticas, como os dispositivos médicos (BATONI, *et al.*, 2016).

Essas infecções teciduais ou associadas a dispositivos médicos possuem importante reconhecimento na clínica médica como fator de doenças nosocomiais de difícil tratamento. Acontece isso por conta da sua cronicidade se caracterizar como infecções persistentes e dano tecidual no paciente, além, claro, da resistência à resposta imune do hospedeiro aos agentes antimicrobianos (BARROS, 2017).

O tratamento de infecções com antibióticos tem sido descrito desde sua descoberta, no entanto, nos últimos anos houve um aumento alarmante em todo o mundo em patógenos bacterianos resistentes a múltiplas drogas. Causando assim um sério desafio aos tratamentos antimicrobianos eficazes por antibióticos convencionais e levando a uma necessidade crucial de identificar novos agentes de biocontrole (CRUZ, 2017; SHAGAGHI *et al.*, 2016).

Diante dessas condições, o tratamento de infecções causadas por esses organismos se torna difícil. Para que os antibióticos sejam eficazes, é necessário que atravessem a matriz extracelular e alcancem as bactérias encapsuladas (CIOFU; TOLKER-NIELSEN, 2010).

No entanto, a penetração e difusão dos antimicrobianos na matriz polissacarídica são fracas. Além disso, a organização dos micro-organismos nessas condições dificulta ainda mais a ação dos antibióticos. Certos mecanismos da matriz extracelular do biofilme podem

se ligar ao agente antimicrobiano, impedindo sua penetração. Isso reduz sua eficácia e proporciona maior proteção e resistência aos antibióticos (CHIANG et al., 2013; OKSHEVSKY; MEYER, 2015; PINTO, 2016).

A remoção bem-sucedida de biofilmes complexos requer o uso de formulações enzimáticas. Isso, em associação com drogas já utilizadas, promove a clivagem de elementos importantes da matriz do biofilme e aumenta o poder antibiótico e a resposta imune do hospedeiro, resultando em maior eficácia no tratamento, além de dificultar a aderência celular aos substratos (THALLINGER *et al.*, 2013).

Com o crescente número de problemas ocasionados por micro-organismos patogênicos, principalmente contaminando utensílios hospitalares, faz-se necessário intensificar a utilização de agentes antimicrobianos para controlá-los. No entanto, devido ao uso indiscriminado de tais químicos, a resistência bacteriana vem evoluindo rapidamente. Por isso, tem-se que buscar por novas alternativas de tratamento (BARBOSA, 2015; MONTEIRO, 2017).

A forma de controlar ou erradicar problemas infecciosos é um grande desafio no ambiente clínico por conta de muitas variáveis que dificultam seu combate, uma vez que os micro-organismos podem se comportar ou se associar a condições complexas. Um problema bem evidente que dificulta o controle microbiológico, mesmo com o uso de drogas que demonstram resultados inibitórios bem satisfatórios, encontra certa limitação quando as células bacterianas se organizam em biofilmes (BARROS, 2017).

Mesmo que os antibióticos possam diminuir o número de bactérias no biofilme, eles não as erradicam completamente *in vivo*. Isso gera consequências clínicas por causa das dificuldades em combatê-las. Por via disso, ocorre a reinfecção crônica do paciente, além dos efeitos colaterais, uma vez que altas doses do antibiótico podem ser necessárias durante o tratamento (CIOFU; TOLKER-NIELSEN, 2010; ROY *et al.*, 2018). Em feridas crônicas e infectadas, é rotineira a presença de espécies de micro-organismos colonizando-as, incluindo *Staphylococcus aureus*. Muitos deles são fortes formadores de biofilmes, acarretando em dificuldades no processo de cicatrização do paciente (DEAN *et al.*, 2011).

Além disso, estudos têm demonstrado que biomoléculas de origem vegetal podem ser usadas quando mecanismos de resistência microbiana tornam os tratamentos convencionais ineficientes, agindo inclusive na formação de biofilmes (SIMOES; BENNETT; ROSA, 2009).

Esses fatores incentivam a busca por novas moléculas biologicamente ativas que apresentem potencial antibacteriano e antibiofilme. Isso vem ganhando atenção especial no

mundo científico, apresentando-se como uma forma promissora para a produção de novas drogas (SOARES *et al.*, 2015).

Portanto, qualquer esforço para explorar produtos medicinais disponíveis na flora botânica para melhorar as opções de tratamento e retomada de saúde dos pacientes acometidos por infecções merece atenção.

2.5 Problemas causados por nematoides

Nematoides são um grupo de animais bem diversificado e extremamente abundante nos ecossistemas, podendo se apresentar como organismos de vida livre ou parasitando alguma outra espécie animal ou vegetal (BIRD *et al.*, 2015). Esses organismos vermiformes ocorrem em todos os tipos de substratos e sedimentos e em todas as zonas climáticas, sendo assim, de considerável importância ecológica (TRAUNSPURGER, 2000).

Sua importância se dá pelo fato de que podem ser transmissores de muitas doenças em plantas e animais, levando a grandes prejuízos em diversos tipos de plantações ou afetando a saúde humana e animal (ESTEVES; FONSECA-GENEVOIS, 2006). Por ser um grupo altamente diversificado, seus hábitos alimentares também são bem amplos. Entre eles, os principais e mais estudados são os que parasitam plantas e animais por conta dos prejuízos que oferecem no setor agropecuário, médico e veterinário (GOULART, 2010).

Nematoides fitopatogênicos são frequentemente controlados em plantações comerciais pela aplicação periódica de nematicidas químicos. Entretanto, este método gera inúmeros questionamentos por ser ambientalmente inaceitável aos ecossistemas por sua alta toxicidade, custo elevado e sua capacidade de gerar resíduos no solo, podendo comprometer rios, lagos e o lençol freático (ALMEIDA *et al.*, 2016; TRIPATHI *et al.*, 2015).

O ciclo de vida desses vermes é tipicamente dividido em seis estágios: o ovo, quatro estágios juvenis e o adulto e a duração de cada um, difere em espécies e também fatores como temperatura, umidade e planta hospedeira (COYNE; NICOL; CLAUDIUS-COLE, 2018).

Outra questão bem relevante abrange os setores de produção de alimentos derivados de produtos animais. Isso porque eles sofrem muitas perdas em sua produtividade, em virtude do parasitismo, gerando custos de bilhões de dólares em todo o mundo (GANG; HALLEM, 2016). Gerando impacto na economia do sistema de produção de leite e proteína animal e afetando a qualidade e quantidade dos produtos, resultando na queda do preço (ANTONIO *et al.*, 2019; MACHADO, 2015; SILVA *et al.*, 2017; VIEIRA, 2007).

A quantidade de danos gerados depende de uma vasta gama de fatores como

densidade populacional, virulência da espécie e resistência do sistema imunológico do hospedeiro (COYNE; NICOL; CLAUDIUS-COLE, 2018).

Em relação a ovinocultura, os prejuízos econômicos resultantes de animais infectados por nematoides podem chegar a 60%. Isso torna a atividade economicamente inviável (ROBERTO *et al.*, 2018). A situação ainda é mais agravante por conta da predominância de animais contaminados em virtude da disponibilidade de estágios infecciosos de nematoides nas pastagens (TARIQ, 2017).

Um problema que preocupa ainda mais consiste na múltipla resistência anti-helmíntica, tornando escassas ou insuficientes as opções de controle e tratamento. Em consequência disso, acaba-se exigindo doses mais elevadas, aumentando o risco de contaminação alimentar pelos resíduos gerados e também questões ambientais (ENGSTROM *et al.*, 2016).

Naturalmente, os herbívoros utilizam respostas imunes ou comportamentais de forma a suprimir ou prevenir os males causados pelos parasitas que os acometem (CASTEJON, 2011). Existem evidências de que animais parasitados possuem a prática de se automedicarem na natureza. Fazem isso por meio da ingestão de vegetais com potenciais biológicos. Esses relatos estão em muitos estudos e baseiam-se no postulado de que esses animais evoluíram e adquiriram tais mecanismos como resposta e proteção contra parasitas (GLAZER *et al.*, 2015).

Ruminantes comumente apresentam tais comportamentos por meio de busca seletiva por vegetais que apresentam potenciais terapêuticos com atividade anti-helmíntica. Tanto para fins profiláticos como terapêuticos, a preferência por plantas com altos teores de tanino parece estar relacionada à condição de parasitismo por nematoides (VILLALBA *et al.*, 2014).

Diversos estudos obtidos nas últimas décadas indicam o potencial que os compostos fenólicos ingeridos na dieta, em especial taninos, podem reduzir infecções por nematoides em pequenos ruminantes (GLAZER *et al.*, 2015).

Além disso, questões como bem-estar animal, segurança alimentar e cuidados ambientais têm preocupado consumidores e produtores. Despertando a necessidade de desenvolver novas estratégias de controle que apresentem sustentabilidade, segurança e produtividade (LOPES *et al.*, 2018).

Outra questão importante é que os helmintos estão entre os principais parasitas que causam doenças no ser humano. Eles são frequentemente observados nos países em desenvolvimento. Isso torna seu estudo consideravelmente interessante para a área da saúde,

porque esses organismos possuem parte de seu ciclo evolutivo desenvolvido no aparelho digestivo humano, causando muitas complicações no hospedeiro (BACELAR, 2018; CHIPOLINE, PACHECO, 2016). O impacto gerado nos sistemas de saúde pública e sua predominância afeta principalmente crianças residentes em regiões carentes de condições sanitárias básicas, refletindo em elevadas incidências de doenças e comprometimento em seu desenvolvimento (FIN, 2016; INYANG-ETOH; OKONKWO; EJEZIE, 2018).

Estima-se que bilhões de pessoas em todo o mundo encontram-se expostas aos riscos de infecções por helmintos. As espécies mais comuns são *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* e ancilostomídeos *Necator americanus* e *Ancylostoma duodenale* (FENALTI *et al.*, 2016). Embora a maioria das infecções causadas por vermes esteja geralmente limitada a países tropicais, esta contaminação pode se estender pelos viajantes, podendo inclusive se desenvolver fora de climas tropicais (SUNITA *et al.*, 2017).

No Brasil, as parasitoses gastrintestinais prevalecem principalmente entre as classes de nível socioeconômico mais baixas. Ocorrendo devido a precariedade em saneamento, educação e habitação, aumentando as taxas de doenças entre este grupo populacional (FENALTI *et al.*, 2016).

A maioria dos medicamentos eficazes para doenças parasitárias não apresenta viabilidade financeira para a indústria farmacêutica tido que os recursos dos grupos afetadas são limitados (PALOQUE *et al.*, 2018).

Para a produção de novos medicamentos, é crucial o investimento em pesquisas e desenvolvimento de novas tecnologias. Isso muitas vezes não tem atenção especial, uma vez que o setor farmacêutico acaba quase sempre focando nas doenças globais porque geram maior lucratividade. Resultante disto, grande é o número de doenças negligenciadas circunscritas no âmbito de países pobres, justamente por não atender à expectativa lucrativa do mercado no atual cenário capitalista (RODRIGUES; VIEIRA, 2016).

A utilização de plantas medicinais baseada no conhecimento etnoveterinário fornece opções farmacológicas para tratamentos de animais acometidos por parasitas gastrintestinais. Estudos avaliando a eficiência de produtos naturais no controle das parasitoses têm apresentado grande eficácia. Os mesmos são vistos como uma alternativa ao tratamento por meio de compostos sintéticos, devido ao surgimento de linhagens resistentes (FREIRE *et al.*, 2018), também por apresentarem resultados promissores além dos baixos riscos ao meio ambiente (SOARES *et al.*, 2018).

Existem muitos estudos preliminares que avaliam a atividade anti-helmíntica. Eles se baseiam em testes *in vitro* utilizando o nematoide de vida livre *Caenorhabditis elegans*. Por

ele ser amplamente difundido na pesquisa científica, é fácil o seu cultivo em laboratório. O mesmo apresenta curto período de vida e baixo custo, além de possuir um vasto banco de informações científicas em relação a seu genoma, comportamento e metabolismo (ANDRÉ *et al.*, 2018).

Muitas vantagens são conferidas quando se trabalha com um organismo modelo, tais como a disponibilidade de bibliotecas mutantes e transgênicas, o que facilita a tarefa de decifrar mecanismos moleculares e interações comportamentais.

Nematoides de solo, como o *C. elegans*, possuem uma rica variedade de comportamentos, incluindo quimiotaxia e termotaxia. O estudo deles permite análises comportamentais detalhadas. Assim, é possível a resolução de diversos problemas ocasionados por outros nematoides prejudiciais. De posse desse conhecimento e de seus mecanismos, obtêm-se os meios para os controlar ou combater (GAUGLER, 2018).

Muitos desses estudos buscam desenvolver estratégias baseadas em fitoquímicos para o controle de nematoides por conta de suas complexas interações químicas entre plantas e nematoides (CHITWOOD, 2002).

3 HIPÓTESE CIENTÍFICA

O TCC é rico em diversas classes químicas de metabólitos secundários. Muitos dos quais possuem grande número de estudos evidenciando suas atividades biológicas nas mais diversas áreas da terapêutica, microbiologia, parasitologia, nutracêutica, ciências médicas e áreas afins. Desta forma, o extrato bruto etanólico do tegumento da amêndoa de castanha de caju (*A. occidentale* L.) apresenta potencial antibacteriano, antifúngico, antibiofilme e anti-helmíntico.

4 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

A resistência antimicrobiana e anti-helmíntica tem aumentado muito diante das drogas atualmente disponíveis. Este ritmo não tem sido acompanhado pelo setor farmacêutico na produção e descoberta de novas drogas mais eficientes. Dessa forma, a busca por novas biomoléculas com atividade sobre tais organismos é necessária.

5 OBJETIVO GERAL

O objetivo desse estudo foi avaliar o potencial antibacteriano, antifúngico e anti-helmíntico do extrato etanólico do tegumento da amêndoa de castanhas de caju (genótipo CCP 76).

5.1 Objetivos Específicos

- 2.1.1 Caracterizar o extrato quanto a presença de diferentes classes de metabólitos secundários;
- 2.1.2 Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) do extrato em bactérias gram-positivas e gram-negativas, bem como em leveduras do gênero *Candida*;
- 2.1.3 Testar a atividade antibiofilme do extrato;
- 2.1.4 Avaliar a capacidade anti-helmíntica em linhagens de *Caenorhabditis elegans* sensíveis e resistentes a Ivermectina;
- 2.1.5 Avaliar a toxicidade do extrato em *Artemia salina*.

6 METODOLOGIA

6.1 Obtenção do tegumento da amêndoa

As sementes do genótipo CCP 76 (Clone Cajueiro Pacajus) foram adquiridas em março de 2016 no Campo Experimental de Pacajus-Ceará, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA.

As sementes foram lavadas em solução de hipoclorito a 2%, secas e quebradas com auxílio de martelo para a retirada da amêndoa. Após a obtenção da amêndoa, foram retirados o tegumento envolvente com auxílio de uma lâmina. Em seguida, o tegumento foi processado em moinho até a formação de um pó fino, pesado e estocado sob refrigeração a 4°C.

6.2 Preparação do Extrato Etanólico.

Para a produção do extrato, foi adicionado 100 ml de álcool etílico 70% v/v para cada 10 g de material macerado sob agitação orbital a 2400 rpm a temperatura ambiente. A troca de solvente foi realizada a cada 8 horas até apresentar uma mudança acentuada na coloração do material macerado.

Os extratos resultantes das trocas foram centrifugados a 2500 rpm por 5 min, os sobrenadantes foram coletados e conduzidos à capela de exaustão até a total evaporação da parte líquida. O material resultante foi dissolvido em água e liofilizado para a retirada dos líquidos residuais e armazenado em freezer a -20°C.

6.3 Testes Fitoquímicos

Os testes fitoquímicos foram realizados de forma a evidenciar as principais classes de substâncias químicas presentes por reações qualitativas. Isso, a partir de extratos com reagentes específicos para cada classe, de acordo com o protocolo estabelecido por Matos (1995). As classes de substâncias testadas foram os fenóis, os taninos, os flavonoides, as antocianinas, as antocianidinas, as catequinas, as leucoantocianidinas e os alcaloides.

6.4 Ensaios biológicos.

A ação das substâncias bioativas das plantas, assim como, suas doses terapêuticas, deve ser devidamente elucidada de forma a dar segurança em testes que viabilizem seu uso em pessoas e animais (FENALTI *et al.*, 2016). Por conta da rapidez, custo e conveniência, o uso de *Artemia salina* tem sido amplamente utilizado para testes de toxicidade na busca de potenciais drogas a partir de extratos vegetais (ARUMUGAM *et al.*, 2019). A fim de avaliar o grau de toxicidade do extrato, foram realizados ensaios em *Artemia salina*.

6.5 Cepas microbianas

Para o seguinte estudo foram utilizadas cepas de *Staphylococcus aureus* MRSA (ATCC 700998), *Escherichia coli* (N22), *Salmonella* Serovar typhimurium (ATCC 14028), *Streptococcus salivarius* (NCTC 8618), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Serratia marcescens* (CDC 4112), *Candida albicans* (ATCC 90028), *Candida tropicalis* (ATCC 750) disponibilizados pela Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Rio de Janeiro - Brasil.

6.6 Preparação do extrato para os testes biológicos

Para a preparação do material a ser testado em bactéria, fungo e nematoide, o extrato etanólico do TCC foi pesado, 2.000µg do material foram dissolvidos em 1.000µL de água deionizada, atingindo uma concentração final de 2mg/mL.

6.7 Condições de cultivo e crescimento dos microrganismos

As cepas bacterianas estocadas em meio *Brain Hearth Infusion* (BHI; M210-500G, HIMEDIA), caldo com 30% de glicerol, à temperatura de -86 °C, foram ativadas usando uma alíquota de 50 µL da solução inoculando em 5 mL de meio BHI caldo estéril previamente incubado por 24 h à temperatura de 37 °C. Em seguida, foi colhida uma nova alíquota de 50µL do cultivo e inoculada em 5 mL de meio BHI caldo estéril e incubada por 16-20 h nas mesmas condições. Ao atingir a fase tardia de crescimento exponencial, os microrganismos foram centrifugados e ressuspensos em meio de cultura estéril com concentração ajustada para 1×10^6 UFC.mL⁻¹ com auxílio de um espectrofotômetro com comprimento de onda de 600nm.

Para o cultivo de fungo do gênero *Cândida*, seguiu-se o mesmo procedimento anterior, exceto o meio de cultivo, o qual foi usado meio específico *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB).

6.8 Linhagem *Caenorhabditis elegans* sensível (Bristol N2) e resistente a Ivermectina (IVR₁₅)

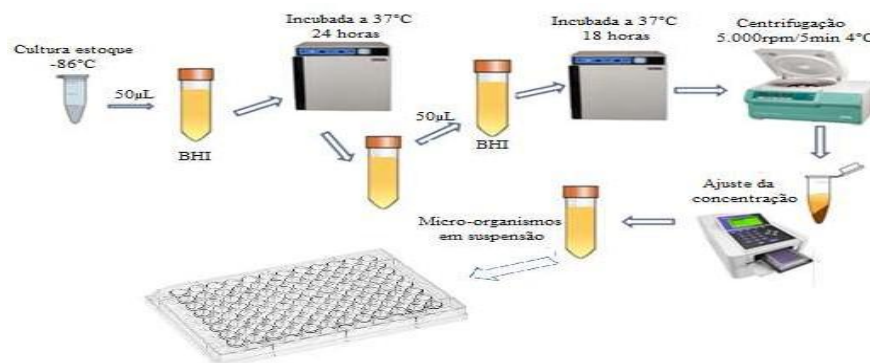
Nesse estudo foram utilizadas as linhagens de *Caenorhabditis elegans* sensível e resistente à Ivermectina, obtida por meio do Departamento de Parasitologia/ICB/USP. Culturas monoxênicas da referida linhagem foram mantidas em placas com meio NGM ágar (*Nematode Growth Media*) enriquecido com fosfato de potássio 1M em pH 6.0, CaCl₂ 1M, MgSO₄ 1M, semeado com *Escherichia coli* NA22 e incubadas em estufa B.O.D. (Demanda Bioquímica de Oxigênio) a 22°C, como descrito por (WOOD, 1988).

6.9 Ensaio de atividade antimicrobiana CIM e CBM.

A atividade antimicrobiana do extrato foi verificada segundo o teste de microdiluição em placas de poliestireno de 96 poços, padronizada segundo a diretriz M07 – A 9ª edição, Metodologia para Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos por Diluição para Bactérias de Crescimento Aeróbico (CLSI, 2012).

Para o teste com o extrato, foi utilizada uma placa de 96 poços. Cada poço da placa foi preenchido com 100 µL de meio de cultura BHI caldo estéril, com exceção da primeira linha, a qual foi preenchida com 200 µL do extrato na concentração de 2 mg/mL. Partindo dessa concentração, foram realizadas diluições seriadas na base dois para obtenção de diferentes concentrações. Em seguida, foram adicionadas 100 µL da solução bacteriana na concentração ajustada, com concentração final de 1×10^6 UFC/mL⁻¹. A placa foi incubada por 24 h nas mesmas condições de cultivo anterior. Os testes foram feitos em replicatas de cinco. (Figura 3.)

Figura 3. Representação esquemática para determinação de CIM



Fonte: Adaptado de Furtado, 2017.

Para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM), sendo considerada CIM a menor concentração do extrato capaz de inibir visualmente o crescimento bacteriano após 24 h de incubação. Além disso, a inibição do crescimento planctônico foi visualizada através de leitura espectrofotométrica de D.O. sob $\lambda = 620$ nm (Biotrak II Reader - Amersham Biosciences).

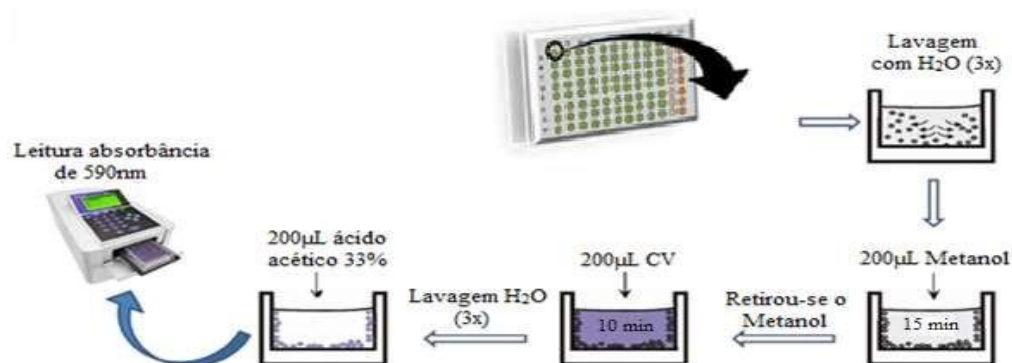
Para determinação da CBM, foi retirada uma alíquota de 10 μ L dos poços onde não houve crescimento microbiano visível e inoculados em placas de Petri contendo meio de cultura BHI ágar estéril. Após um período de 24 h de incubação a 37 °C em condições aeróbicas. Foi considerado CBM a menor concentração capaz de inibir completamente o crescimento microbiano na superfície de ágar.

6.10 Ensaio de atividade antibiofilme

O ensaio antibiofilme foi realizado de acordo com a metodologia estabelecida por O'toole (2011) com algumas modificações. Para a quantificação da biomassa, as bactérias planctônicas foram removidas e os poços lavados 3 vezes com água destilada. Após secagem da placa à temperatura ambiente, 200 μ L de álcool metílico PA foram adicionados e deixados por 15 minutos para fixação das células aderidas. Após a remoção do metanol, 200 μ L de Cristal Violeta - CV 0,1% foram adicionados por 10 minutos para permitir uma quantificação indireta da biomassa através da coloração. Em seguida, o CV foi removido e repetido o processo de lavagem e secagem da placa. Em seguida, foram adicionados 200 μ L de ácido acético 33% por 10 minutos para dissolução do corante preso ao biofilme. A suspensão obtida em cada poço foi transferida para uma nova placa de 96 poços, onde foi realizada a medição

da absorbância em um leitor de microplacas a 590 nm (Biotrak II Reader - Amersham Biosciences) (Figura 4).

Figura 4: Representação esquemática da metodologia de quantificação de biofilme dos micro-organismos, em placas de poliestireno de 96 poços



Fonte: Adaptado de FURTADO, 2017.

6.11 Teste de mortalidade em *Caenorhabditis elegans* N2 e IVR₁₅

A avaliação do efeito anti-helmíntico seguiu a metodologia descrita por Katiki *et al.* (2011) com adaptações. Os nematoides foram recolhidos das placas de cultivo com auxílio do tampão M9, separados por malhas de 38 e 53 µm para seleção dos adultos, a suspensão foi ajustada para conter, aproximadamente, 120 nematoides em cada 100 µL de tampão.

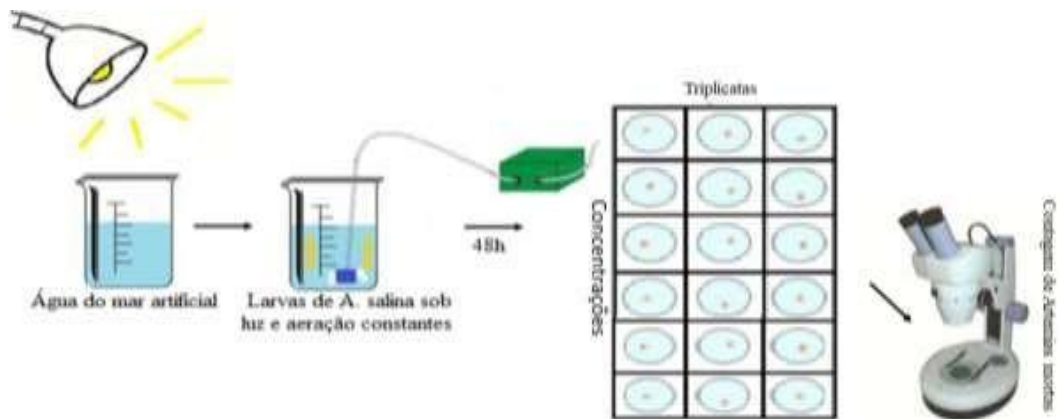
O teste foi incubado em placa de 96 poços e o extrato foi aplicado em diluições seriadas, perfazendo sete concentrações que variaram de 1000 µg/mL a 0,39 µg /mL com cinco replicatas cada. Para controle negativo, foi utilizado 100 µL de tampão M9 e 100 µL da suspensão de M9 com nematóides adultos. Após o período de 24 horas de exposição, foi realizada a contagem de mortos e vivos com auxílio de microscópio modelo *Carl Zeiss MicroImaging Primo star*®.

6.12 Teste de toxicidade em *Artemia salina*.

Para avaliar o grau de toxicidade do extrato, foi utilizado *Artemia salina*, seguindo metodologia descrita por Meyer e colaboradores (1982) com algumas adaptações. Após a eclosão dos ovos, foi aguardado o tempo para que esses alcançassem o estágio de metanúplio (48 horas). As larvas foram transferidas para placas de 24 poços, ficando 10 larvas em cada poço. O teste foi realizado em triplicata, contendo água do mar artificial (1.000µL em todos os poços) e a respectiva amostra no mesmo volume, seguindo diluições

seriadas nas concentrações de 3,125, 6,25, 12,5, 25, 50 e 100µg/ml. Para controle positivo, foi usada solução de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) a 10 mg/ml e o negativo foi utilizado água do mar artificial. Após o período de 48 horas de contato, foram contados os animais mortos com o auxílio de um estereoscópio. (Figura 5).

Figura 5: Esquema de preparação e execução de teste de letalidade em *Artemia salina* L.



Fonte: Adaptado de Moreira, 2013.

7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para as análises estatísticas, foi utilizado o *Software GraphPad Prism* (Versão 7.0 para Windows). Para a análise de significância entre os grupos, foi utilizado *One-Way ANOVA* com pós-teste de Bonferroni, considerando $p < 0.05$ como significativo.

8 RESULTADOS

8.1 Testes Fitoquímicos

Nos testes fitoquímicos, foi observada a presença de algumas classes de metabólitos secundários, principalmente da classe dos compostos fenólicos (Tabela 1).

tabela1: Fitoquímicos presentes no extrato do TCC.

FITOQUÍMICOS	Presença (+) / Ausência (-)
Antocianidinas	-
Antocianinas	-
Catequinas	+
Esteroides livres	-
Fenóis	-
Flavonoides	-
Flavonóis	+
Flavononas	+
Flavononóis	+
Leucoantocianidinas	-
Saponinas	+
Taninos	+
Triterpenos	+
Xantonas	-

Fonte: Autor. **Legenda:** A ausência ou presença de metabólitos são representados por + ou – respectivamente.

8.2 Teste de Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima

O extrato apresentou efeito de CIM para *S. aureus*, *MRSA*, *S. salivarius* e *C. albicans* com valores de 250; 15,6; 31,2 e 250 µg, respectivamente. Embora o resultado inibitório para *S. aureus* tenha ficado em 250µg, quando analisadas as placas para CBM, não foi observado qualquer crescimento microbiano sobre a superfície do ágar, mesmo na concentração de 15,6 µg. Além disto, para *MRSA* os valores de CIM e CBM foram semelhantes, o mesmo foi observado também em *S. salivarius*.

Embora a CIM para *C. albicans* tenha ficado na concentração de 250 µg, quando avaliada sua CBM, não foi observado nenhum efeito bactericida, pois mesmo na concentração mais elevada, o fungo conseguiu crescer com êxito sobre a superfície do ágar,

que confirma apenas seu efeito bacteriostático. Vale ressaltar ainda que os demais micro-organismos não apresentaram CIM e consequentemente CBM (Tabela 2). É importante lembrar que o extrato em contato com o meio de cultivo apresentou precipitação nas concentrações mais altas. De forma a excluir esse interferente na leitura de sua D.O. foi feito um controle de turbidez.

tabela 2: Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) em µg/mL do extrato etanólico do TCC contra bactérias gram-positivas e gram-negativas e fungos do gênero *Cândida*.

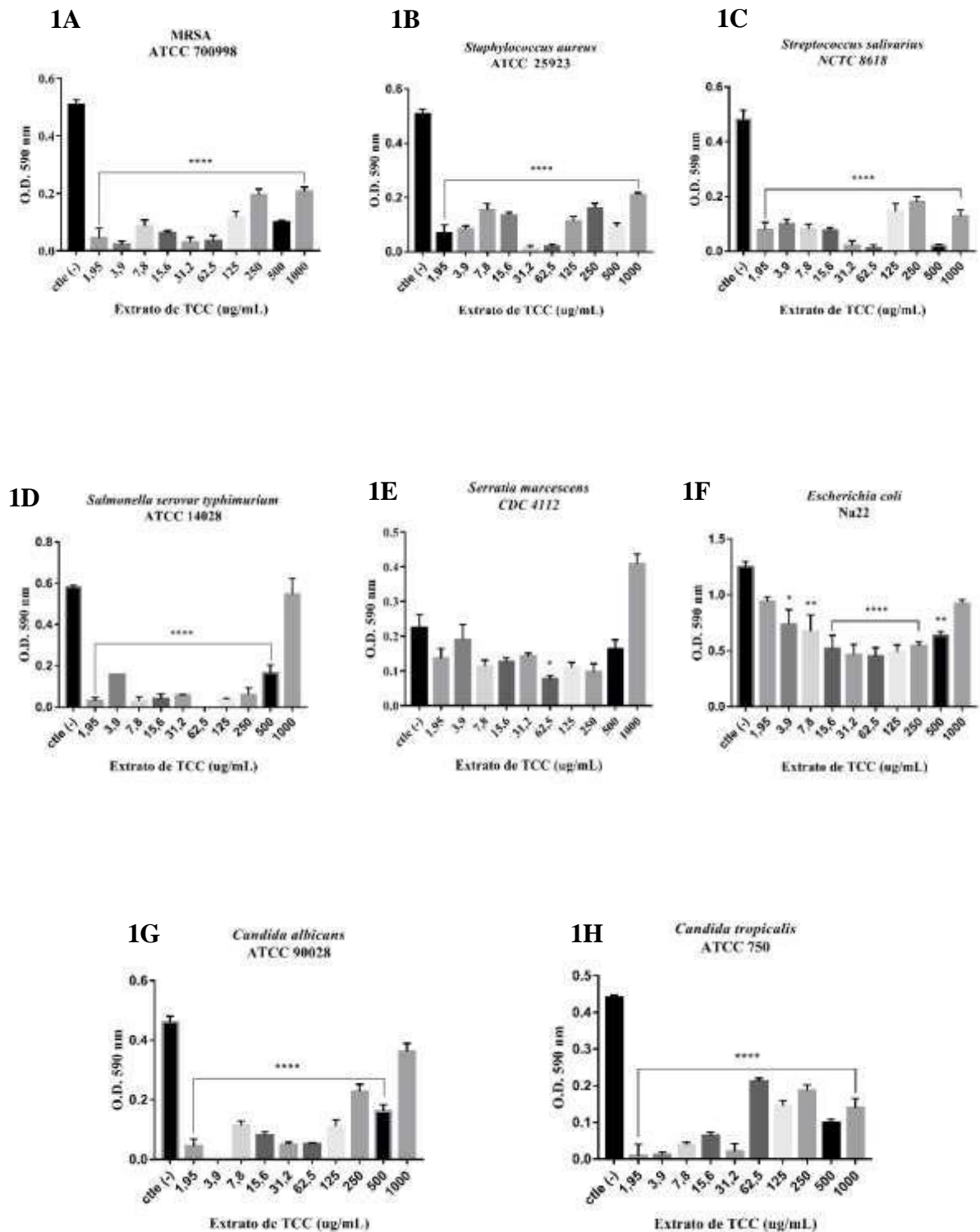
MICRO-ORGANISMOS	CIM	CBM
<i>S. aureus</i> (ATCC 700998) <i>MRSA</i>	250 µg	15,6 µg
<i>S. aureus</i> (25923)	15,6 µg	15,6 µg
<i>S. salivarius</i> (NCTC 8618), <i>Escherichia coli</i> (N22)	31,2 µg -	31,2 µg -
<i>Salmonella</i> <i>Serovar typhimurium</i> (14028)	-	-
<i>Serratia marcescens</i> (CDC 4112)	-	-
<i>Candida albicans</i> (ATCC 90028)	250 µg	-
<i>Candida tropicalis</i> (ATCC)	-	-

Fonte: Autor. Legenda: - representa não ter apresentado CIM e CBM.

8.3 Efeito antibiofilme

Nos testes para biofilme, todos os micro-organismos apresentaram redução na produção 24 horas após o contato com o extrato (Gráficos 1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 1F, 1G e 1H). Observa-se maior produção de biofilme nas concentrações mais altas do extrato para quase todos os micro-organismos. Como mencionado anteriormente, nessas concentrações, o extrato apresentou precipitação. Além disso, sua coloração nessas concentrações apresenta aspecto de coloração âmbar, possivelmente pela presença de pigmentos. De forma a excluir estes interferentes, foi feito um controle de turbidez contendo apenas extrato e meio de cultivo.

Gráfico 1: Efeito antibiofilme em bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungo do gênero *Candida*.

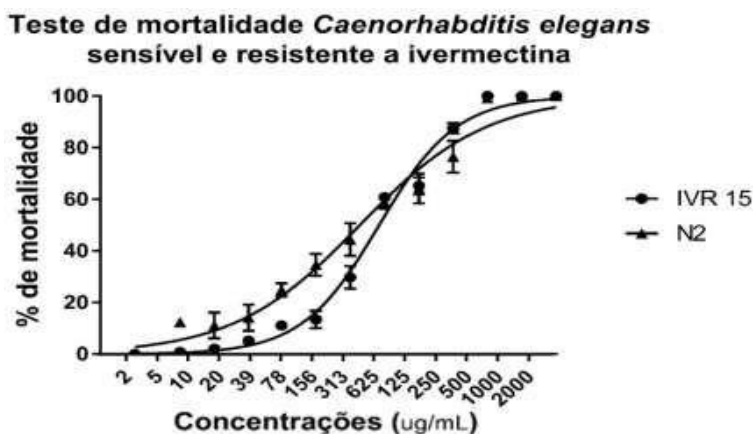


Fonte: autor. **Legenda:** Os valores representam a média \pm SEM da absorbância para o teste de biofilme. Para análises estatísticas foram utilizados o One-way ANOVA seguido com pós-teste de Bonferroni em relação ao grupo controle negativo. *mostra diferenças significativas em relação ao controle. Valores significativos: **** $p < 0,0001$. Bactérias gram-positivas (1A, 1B e 1C), bactérias gram-negativas (1D, 1E e 1F) e fungos do gênero *Candida* (1G e 1H).

8.4 Teste mortalidade em *C. elegans* N2 e IVR15

O extrato testado apresentou efeito inibitório comprovado contra as duas linhagens de *C. elegans*, apresentando efeito dose-resposta com DL₅₀ de $128,6 \pm 13,6$ µg/mL para IVR₁₅ e $97,32 \pm 10,9$ µg/mL para N2 (Gráfico 2).

Gráfico 2: Teste de mortalidade larvar utilizando extrato etanólico do TCC em *Caenorhabditis. elegans*.

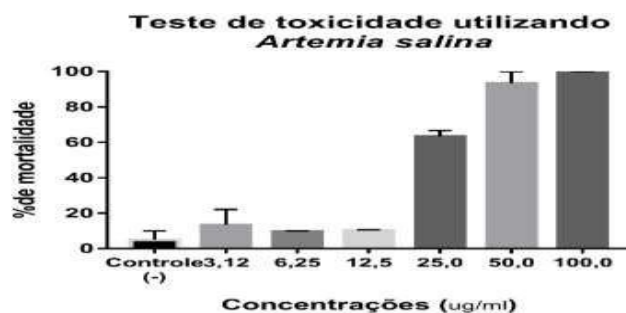


Fonte: Autor. **Legenda:** Os valores representam a Dose Letal (DL₅₀) em µg/mL necessários para matar 50% dos animais.

8.5 Teste de toxicidade frente a *Artemia salina*.

Na avaliação do potencial tóxico do extrato do TCC os valores de DL₅₀ foram de 46,96 µg/mL para 48h de exposição ao extrato (gráfico 3).

Gráfico 3: Teste de toxicidade avaliado em *Artemia salina* após 48h em contato com o extrato do Tegumento da castanha de caju.



Fonte: Autor. **Legenda:** Os valores representam a porcentagem de mortalidade dos animais (Eixo y) em decorrência da concentração do extrato em µg/mL.

9 DISCUSSÃO

A realização de análises químicas dos vegetais com potencial antimicrobiano e antiparasitário é primordial, pois permite aprofundar conhecimentos a respeito das atividades terapêuticas, gerando melhorias na qualidade e eficiência para a produção de novas drogas (SPRENGER *et al.*, 2015). A exploração das mais variadas classes de compostos químicos advindos do metabolismo vegetal fornece esse suporte. A triagem preliminar de seus constituintes permite inferir tais classes. Uma vez identificada a presença de determinados grupos químicos e o conhecimento de suas características, surge a importância de avaliar seus efeitos biológicos.

Nesse trabalho, foi identificada a presença de importantes classes de metabólitos secundários presentes no extrato do TCC (Tabela 1), moléculas que possuem seus mecanismos amplamente explorados para a produção de medicamentos ou produtos com ação antimicrobiana. Radulovic e colaboradores (2013) ressaltam sobre o poder antimicrobiano que o metabolismo secundário vegetal apresenta contra uma variedade de organismos patogênicos, oferecendo insumos promissores para elaboração de novas drogas.

Os metabólitos aqui evidenciados abrangem principalmente compostos fenólicos. Segundo Celebioglu e colaboradores (2018), estes compostos apresentam muita importância para a microbiologia, uma vez que eles podem interagir com alvos moleculares em vários micro-organismos patogênicos, bloqueando reações vitais à célula.

Mesquita e colaboradores (2017) afirmam que o interesse crescente pelo conhecimento dessas moléculas está em seus possíveis mecanismos de inibir ou cessar o crescimento e desenvolvimento microbiológico. Os autores relatam ainda que este aumento surge em virtude da necessidade de descoberta de novas drogas no setor, condição essa movida pela resistência que os patógenos vêm apresentando ao longo dos anos frente às drogas existentes.

Neste estudo, *A. occidentale* L. demonstrou atividade antimicrobiana (Tabela 2), porém as bactérias gram-negativas como *E. coli*, *Serratia* e *Salmonella* apresentaram menor sensibilidade quando comparadas aos organismos gram-positivos. Segundo Pombo *et al.* (2018), esta baixa atividade possivelmente está relacionada à complexidade em sua parede celular, uma vez que bactérias gram-negativas apresentam maior resistência aos extratos vegetais por conta de sua espessa camada de peptidoglicano com suas ligações entre si e outros componentes. Esta complexidade oferece mais barreiras contra a entrada de algum

componente na célula. Ainda assim, vale ressaltar que houve redução no crescimento celular destes organismos, demonstrando que, embora o extrato não tenha apresentado redução total, conseguiu perturbar o meio e consequentemente, reduzir o crescimento microbiológico.

Da mesma forma, quando avaliado em leveduras, os resultados de CIM foram expressivos apenas para *C. albicans* nas maiores doses, tendo o efeito reduzido gradativamente em função da redução da concentração do extrato. Esses organismos são mais resistentes aos compostos antimicrobianos, pois contam com uma estruturação celular mais elaborada, com parede celular revestida de quitina. Contudo, ao avaliar a CBM, foi confirmado que não houve morte total, sugerindo efeito fungistático. Monteiro e colaboradores (2017) testaram a atividade antibacteriana e antifúngica do líquido da castanha de caju, obtendo resultados positivos para bactérias gram-positivas, corroborando com este estudo. No entanto, os autores não observaram resultados inibitórios em fungos do gênero *Candida*.

É importante ressaltar os resultados encontrados em organismos gram-positivos (Tabela 2), visto que a estrutura da parede celular dessas bactérias as torna mais suscetíveis quando em contato com o extrato. Estes resultados microbiológicos foram semelhantes aos trabalhos de Celis e colaboradores (2011), utilizando extratos etanólicos de diferentes partes de *Anacardium excelsum*, onde obtiveram os melhores resultados com o extrato da semente e seu tegumento. Entretanto, cabe ressaltar que a dose utilizada pelos autores foi de 40 mg, enquanto no atual estudo foi possível obter resultados bem expressivos na dose de 15,6 µg/mL.

No trabalho de Ramos e colaboradores (2018), os autores descreveram resultados bactericidas para *S. aureus* utilizando extrato etanólico de folhas de *A. occidentale* L. com concentração de 260 µg/mL, enquanto em nossos resultados utilizando o TCC mostrou-se mais eficiente, necessitando de apenas 15,6 µg/mL.

Dias-Souza e colaboradores (2017) em seu trabalho obtiveram resultados de CIM de 15,6 µg/mL e CBM de 125 µg/mL de extrato em *S. aureus*, diferindo de nossos resultados. Foi possível observar em *S. aureus* ATCC 700998 que a CIM e CBM foram de 250 e 15,6 µg/mL, respectivamente. É sabido que muitos organismos apresentam comportamentos que lhes permitem sobreviver quando as condições se encontram desfavoráveis. Uma forma é reduzindo sua taxa metabólica, o que os faz entrar em fase de dormência, até que se estabeleçam as condições favoráveis para a retomada de crescimento.

É provável que essa bactéria tenha se mantido viva por um curto período, mantendo sua reprodução, mas não tenha conseguido sobreviver por longo período em contato com o

extrato. Outra hipótese pode estar relacionada com uma possível perturbação do *quorum-sensing*, impedindo a comunicação entre as células. Segundo Papenfort e Bassler (2016), o *quorum-sensing* é um processo responsável pela comunicação célula-célula, permitindo que as bactérias modifiquem coletivamente o comportamento em resposta a mudanças na densidade celular. Vattem *et al.* (2007) relatam que esse sistema é usado para modular a expressão de genes relacionados à sobrevivência, virulência e patogenicidade.

Uma possível hipótese é que este mecanismo tenha sido bloqueado pelo extrato, tornando imperceptível o ambiente desfavorável. Com isto, as células bacterianas continuaram crescendo e saturando o meio, resultando em estresse metabólico e, conseqüentemente, morte celular. Desta forma, o resultado de CIM pode ser explicado como a densidade óptica das células mortas capturadas pelo espectrofotômetro, uma vez que a CBM destas concentrações não foi observada pelo crescimento sobre a superfície do ágar.

É importante ressaltar ainda que a bactéria apresenta resistência a metilina e, embora seja prematuro afirmar qualquer relação com o observado nesse trabalho visto à atuação específica, estes resultados são interessantes pois sugerem uma alternativa ao uso de drogas sintéticas.

Segundo Anand e colaboradores (2015), os efeitos antimicrobianos podem ser atribuídos aos polifenóis presentes no extrato. De acordo com Cioch *et al.* (2017), esses compostos apresentam propriedades lipofílicas, destruindo a parede celular e a membrana citoplasmática dos micro-organismos, inibindo também a síntese de biomoléculas importantes para sua sobrevivência. A forte atividade antibacteriana *in vitro* observada em organismos gram-positivos sugere amplas aplicações farmacêuticas.

Nos resultados para biofilmes, todos os organismos apresentaram redução em sua produção em baixas concentrações do extrato (Gráfico 1). Biofilmes conferem mecanismos de sobrevivência vantajosos aos membros da comunidade microbiana, ajudando na adaptabilidade em diversos meios através da indução de uma série de mudanças metabólicas, como a produção de exopolissacarídeos (BRANDWEIN; STEINBERG; MESHNER, 2016).

A maioria dos organismos testados exibiu maior produção de biofilme nas doses mais altas. Acredita-se que nessas concentrações o extrato tenha induzido estresse químico e biológico nas células, induzindo-as a produzir biofilmes mais densos como efeito de proteção. Além disso, outras variáveis físicas e químicas, como interações entre os próprios constituintes, devem ser consideradas, por se tratar de um extrato. Isso explicaria a inibição na produção de biofilme quando se reduz a dose, como o observado neste trabalho.

Resultados semelhantes foram observados nos trabalhos de Celebioglu e

colaboradores (2018) e Wang e colaboradores (2017). Neles, os autores observaram que, na presença de tanino, as células exibiram produção de exopolissacarídeos aumentada.

A maioria das pesquisas antimicrobianas é realizada com células planctônicas, no entanto, a maioria dos micro-organismos em habitats naturais vive em formas de biofilme. Entender como uma droga age sobre esses organismos nessas condições é importante por conta das barreiras que essas estruturas podem oferecer contra a ação antimicrobiana (DIAS-SOUZA *et al.*, 2013).

Além das estruturas exopolissacarídicas, ocorre também a presença de proteínas e ácidos nucleicos. Entre esses componentes proteicos, incluem-se adesinas da superfície celular, subunidades proteicas de flagelos, pili, dentre outras moléculas de natureza proteica (FONG; YILDIZ, 2015). Assim, considerando a presença dos compostos fenólicos e sua capacidade de interação com proteínas, como os taninos, é possível que esses compostos tenham se ligado a essas estruturas proteicas, impedindo sua aderência inicial.

Polifenóis, particularmente flavonoides e seus derivados como os encontrados em nossos estudos, são relatados como agentes antibiofilme. Esse efeito pode estar relacionado à capacidade dos fenóis de se ligarem firmemente a proteínas, formando complexos com proteínas e componentes da parede celular (ELIAS, 2011). Huber *et al.* (2003) atribuem que essas influências têm relação com a capacidade que os compostos apresentam em interferir na comunicação microbiana realizada pelo quórum-sensing.

A capacidade inibitória de biofilmes também foi observada nos trabalhos de Dias-Souza e colaboradores (2017), eles observaram que uma concentração de 500 µg/mL, foi capaz de inibir a produção de biofilme. Nesse estudo, o menor valor capaz de reduzir ao máximo essa produção foi de 31,2 µg/mL, aproximadamente 16 vezes mais eficiente.

Na literatura existem muitos trabalhos evidenciando os potenciais biológicos de *A. occidentale* L. Em uma revisão bibliográfica realizada por Baptista e colaboradores (2018), os autores destacam que a maioria dos trabalhos visa explorar suas propriedades antimicrobianas por meio de testes relativamente simples como concentração inibitória e bactericida mínima, além de disco difusão. Esses trabalhos exploram diversas partes do vegetal, como folhas, fruto, caule, castanha e raízes. Esses achados abrem horizontes promissores na questão de combate ou controle de micro-organismos patogênicos, criando expectativas para novas drogas mais efetivas.

Durante décadas, os anti-helmínticos de origem química mostraram eficiência em muitas espécies de parasitos, no entanto, seu uso indiscriminado tem selecionado linhagens resistentes (RIET-CORREA *et al.*, 2013). De forma a amenizar os problemas com os

nematoides, é necessário desenvolver e disponibilizar novas estratégias de gestão alternativas de baixo custo, rentáveis, mais eficientes e menos agressivas ao meio ambiente.

Em todo mundo, novas pesquisas com plantas apresentando potencial medicinal contra parasitas vêm sendo exploradas a cada dia, tornando-se cada vez mais evidente um provável uso de suas substâncias no controle e combate a nematoides (BAURI *et al.*, 2015). Além disso, em relação aos antiparasitários convencionais, produtos naturais possuem baixo custo, menores efeitos colaterais e reduzem a possibilidade de aparecimento de resistência (FENALTI *et al.*, 2016).

Muitos testes com *C. elegans* tem sido realizado para se estabelecer modelos de ação de novos anti-helmínticos com resultados replicados em animais infectados por nematoides gastrintestinais resistentes a medicamentos (KATIKI *et al.*, 2013).

Nossos estudos comprovam a eficiência anti-helmíntica do extrato etanólico do TCC, tanto na linhagem sensível como na resistente à Ivermectina, onde, por meio do teste de mortalidade percebe-se o potencial nematicida de *A. occidentale* L., que apresentou DL₅₀ de $128,6 \pm 13,6$ µg/mL para IVR₁₅ e $97,32 \pm 10,9$ µg/mL para N2.

A aderência do extrato etanólico às larvas dos parasitos impede a motilidade e a alimentação, resultando em estresse energético e consequente morte do parasito. Acredita-se que essa ação de aderência ocorra principalmente pela presença de taninos no extrato (GOMES *et al.*, 2010). Segundo Nery e colaboradores (2010), uma hipótese para esse efeito diz respeito à interação do tanino com as proteínas da cutícula, cavidade oral, esôfago, cloaca e vulva do nematoide, alterando suas propriedades físicas e químicas.

De acordo com Montenegro (2012), outro mecanismo de toxicidade se deve ao fato de que taninos possuem a capacidade de se complexar com íons metálicos. Como muitas reações enzimáticas necessitam desses íons como cofatores para sua ação, pode ocorrer a inibição de vias metabólicas ou reações vitais ao organismo.

Bauri e colaboradores (2015), assim como nos trabalhos de Raza *et al.* (2016), relatam que uma possível via para o efeito anti-helmíntico dos taninos é sua ligação às glicoproteínas da cutícula do parasito, além de sua interferência na geração de energia ao desacoplar a fosforilação oxidativa, causando sua morte.

Nos estudos de Ademola e Eloff (2011), os autores avaliaram o efeito anti-helmíntico do extrato de folhas de *A. occidentale* L., obtendo valores de DL₅₀ de 0,142 mg/mL no nematoide gastrintestinal *Haemonchus contortus*. Esses dados, ao serem comparados com os resultados apresentados em nosso estudo, tornam evidente a eficiência mais elevada do extrato do TCC.

A toxicidade é um dos parâmetros essenciais para a avaliação de resposta biológica e do potencial lesivo de causar morte em células e tecidos. Este teste é considerado um dos iniciais para avaliar a viabilidade de uma substância com potencial aplicação farmacêutica (CORRÊA *et al.*, 2017).

O teste de toxicidade utilizando *Artemia salina* tem sido amplamente utilizado para mensurar o efeito tóxico de uma grande variedade de produtos vegetais. Ele tem funcionado como uma técnica alternativa por questões éticas e de bem-estar animal, além de fácil execução e baixo custo (OMEKE; ANAGA; OKOYE, 2018).

No teste feito nessa pesquisa, o extrato do TCC apresentou uma DL₅₀ de 46,96 µg/ml após 48h de contato (Gráfico 3). Apresentando relação direta com a taxa de mortalidade de *A. salina* à medida que a concentração aumenta.

Segundo Silva (2011), existe uma correlação entre a DL₅₀ e o grau de toxicidade de extratos vegetais sobre as larvas de *A. Salina*. Os extratos que obtêm DL₅₀ acima de 1.000 µg/mL não são considerados tóxicos. Nesse estudo, a DL₅₀ alcançou valores bem abaixo de 1.000 µg/mL, prova-se, então, o poder de toxicidade aguda do extrato contra *A. salina*.

Harlita, Sagi e Astuti (2016) avaliaram o efeito de toxicidade aguda do extrato da casca de *A. occidentale* L. em ratos albinos e seus resultados para DL₅₀ foram de 2.018 mg/mL⁻¹, não apresentaram alterações anatômicas nem nos órgãos nem no peso dos animais. Apenas algumas mudanças comportamentais foram observadas, como passividade e secreção de fluidos. Diante disso, esse extrato foi caracterizado como moderadamente tóxico.

Apesar desse extrato ter apresentado toxicidade, é provável que seu uso como produto de ação antimicrobiana e anti-helmíntica seja viável, por se tratar de um extrato bruto, muitos compostos químicos estão presentes no meio. As possibilidades de isolar os constituintes de forma a deixar seu uso mais seguro para aplicações farmacêuticas poderão fazer bom uso do efeito apresentado.

10 CONCLUSÃO

O extrato etanólico do TCC demonstrou alta eficiência, revelando-se um insumo biotecnológico promissor no combate a micro-organismos gram-positivos e na redução de biofilmes microbianos. Ademais, apresentou potencial no tratamento de parasitoses gastrintestinais, como nematoides, conforme evidenciado neste estudo. Dessa forma, o extrato do TCC pode ser sugerido como uma alternativa complementar na formulação de rações para ruminantes, contribuindo como medida profilática contra infecções por nematoides.

Embora não tenha apresentado resultados tão satisfatórios para bactérias gram-negativas como visto, é provável que seu uso em doses mais elevadas ou em sinergismo com outras drogas já disponíveis possa potencializar o efeito antibacteriano. Fora isso, as possibilidades de isolamento de seus constituintes podem ainda torná-los mais eficientes ou reduzir sua toxicidade, o que poderá viabilizar seu uso em medicamentos contra os problemas apresentados nesse estudo.

REFERÊNCIAS

- ADEMOLA, I. O.; ELOFF, Jacobus Nicolaas. Anthelmintic efficacy of cashew (*Anacardium occidentale* L.) on *in vitro* susceptibility of the ova and larvae of *Haemonchus contortus*. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 47, p. 9700-9705, 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/255718010_Anthelmintic_efficacy_of_cashew_Anacardium_occidentale_L_on_in_vitro_susceptibility_of_the_ova_and_larvae_of_Haemonchus_contortus. Acesso em: 30 jul. 2018.
- AFIU, Basirat O.; SONIBARE, Adeola M.; ADESANYA, Enitan O. Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant studies of *Lannea egregia* Engl. and K. Krause (Anacardiaceae) stem bark. **Journal of Medicinal Plants for Economic Development**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 9, 2019. Disponível em: <https://jompd.org/index.php/jompd/article/view/62/200>. Acesso em: 16 abr. 2019.
- AGOSTINI-COSTA, T. da S.; FARIA, J. P.; NAVES, R. V.; VIEIRA, R. F. *Anacardium* spp.: caju-do-cerrado. In: VIEIRA, R. F.; CAMILLO, J.; CORADIN, L. (Ed.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: Região Centro-Oeste**. Brasília, DF: MMA, 2018. p. 138-149. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1073429>. Acesso em: 5 mar. 2018.
- AJILEYE, O. O. et al. Isolation and characterization of antioxidant and antimicrobial compounds from *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae) leaf extract. **Journal of King Saud University-Science**, [s. l.], v. 27, n. 3, p. 244-252, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1018364714000986>. Acesso em: 30 maio 2018.
- ALASALVAR, Cesaretin; BOLLING, Bradley W. Review of nut phytochemicals, fat-soluble bioactives, antioxidant components and health effects. **British Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 113, n. S2, p. S68-S78, 2015. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/british-journal-of-nutrition/article/review-of-nut-phytochemicals-fatsoluble-bioactives-antioxidant-components-and-health-effects/DFB0B78FA7CC0345EE937F9100B920DD>. Acesso em: 10 out. 2017.
- ALMEIDA, Fernandes Antonio et al. Reação de cultivares de soja aos nematoides das galhas. **Revista de Ciências Agrárias - Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, [s. l.], v. 59, n. 3, p. 228-234, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/314226065_Reacao_de_cultivares_de_soja_aos_nematoides_das_galhas. Acesso em: 28 jul. 2018.
- ALVES, Raniele Oliveira et al. Purificação de proteases de *Aspergillus tamarii* URM4634 por cromatografia de troca iônica. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 329-334, 2017. Disponível em: <https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/REBAGRO/article/view/5204>. Acesso em 30 jun. 2018.

ANDRÉ, Weibson Paz Pinheiro et al. Óleos essenciais e seus compostos bioativos no controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Acta Scientiae Veterinariae**, [s. l.], v. 46, p. 1 - 14, 2018. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1457831>. Acesso em 15 dez. 2018.

ANTONIO, Armindo Paixão et al. Anthelmintic activity against sheep gastrointestinal nematodes in chemical compounds from *Tephrosia vogelii* leaves. **Open Science**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 8-17, 2019. Disponível em: <http://www.openscienceonline.com/journal/archive2?journalId=707&paperId=5052>. Acesso em 25 mar 2019.

ARAÚJO, Josenildo Segundo Chaves de et al. Antibacterial activity against cariogenic bacteria and cytotoxic and genotoxic potential of *Anacardium occidentale* L. and *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan extracts. **Archives of Oral Biology**, [s. l.], v. 85, p. 113-119, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/journal/archives-of-oral-biology/vol/85/suppl/C>. Acesso em: 12 jan. 2019.

ARUMUGAM, Dhanesh Gandhi et al. Panchagavya mediated copper nanoparticles synthesis, characterization and evaluating cytotoxicity in brine shrimp. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s. l.], v. 19, p. 101132, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S187881811930091X>. Acesso em: 10 jun. 2019.

BACELAR, Polyanna Araújo Alves et al. Parasitoses intestinais e fatores associados no estado do Piauí: uma revisão integrativa. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 1802-1809, 2018. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/27352>. Acesso em: 3 mar. 2018.

BAIDAMSHINA, Diana R. et al. Targeting microbial biofilms using Ficin, a nonspecific plant protease. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, p. 460 - 468, 2017. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/315811468_Targeting_microbial_biofilms_using_Ficin_a_nonspecific_plant_protease. Acesso em: 15 out. 2018.

BANDARA, H. M. H. N. et al. Sound waves effectively assist tobramycin in elimination of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms *in vitro*. **AAPS PharmSciTech**, [s. l.], v. 15, n. 6, p. 1644-1654, 2014. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4245444/>. Acesso em: 12 out. 2018.

BAPTISTA, Anderson et al. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Crude Extracts and Fractions of Cashew (*Anacardium occidentale* L.), Cajui (*Anacardium microcarpum*), and Pequi (*Caryocar brasiliense* C.): A Systematic Review. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], v. 2018, p. 1 - 13, 2018. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5932493/>. Acesso em: 15 jan. 2019.

BARBOSA, Áurea Priscila Campos. **Biofilmes e resistência antibiótica nas infecções do**

trato respiratório superior. Orientador: Eurico Monteiro. 2015. Porto: Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Fernando Pessoa, 2015.

BARBOSA, Helenildo Mesquita et al. Abordagem fitoquímica de metabólitos secundários em *Solanum acanthodes* (Solanaceae) Hook. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 1-11, 2017. Disponível em: <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEETT/article/view/1143>. Acesso em 19 set. 2018.

BARROS, Muriel Primon de. **Venenos como fonte de moléculas ativas contra biofilmes bacterianos patogênicos**. Porto Alegre: Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2017. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/163733>. Acesso em: 3 jan. 2018.

BARROS, P. A. de et al. Dinâmica populacional de fitonematoides sob regimes de fluxo de água em colunas de solo. **Nematropica**, [s. l.], v. 46, n. 2, p. 244-260, 2016. Disponível em: <file:///C:/Users/malub/Downloads/admin,+90803-118318-1-CE.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2017.

BATONI, Giovanna; MAISETTA, Giuseppantonio; ESIN, Semih. Antimicrobial peptides and their interaction with biofilms of medically relevant bacteria. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, [s. l.], v. 1858, n. 5, p. 1044-1060, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273615003521>. Acesso em: 10 dez. 2017.

BAURI, R. K. et al. A review on use of medicinal plants to control parasites. **Indian Journal of Natural Products and Resources (IJNPR)**, [s. l.], v. 6, n. 4, p. 268-277, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/292161550_A_review_on_use_of_medicinal_plants_to_control_parasites. Acesso em 15 nov. 2017.

BIRD, David McK et al. Signatures of adaptation to plant parasitism in nematode genomes. **Parasitology**, [s. l.], v. 142, n. S1, p. 71- 84, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/260868963_Signatures_of_adaptation_to_plant_parasitism_in_nematode_genomes. Acesso em: 15 maio 2018.

BOMTEMPO, Denise Cristina; SILVA, Elder Batista da. Cajucultura Cearense: A Produção Familiar em Beberibe-CE. **Revista GeoNordeste**, [s. l.], n. 1, p. 145-159, 2018. Disponível em: <https://periodicos.ufs.br/geonordeste/article/view/7573>. Acesso em: 18 dez 2018.

BORGES, Anabela *et al.* Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. **Microbial Drug Resistance**, [s. l.], v. 19, n. 4, p. 256-265, 2013. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/mdr.2012.0244>. Acesso em 20 dez. 2017.

BORGES, D. G. L. et al. Plants and their medicinal potential for controlling gastrointestinal nematodes in ruminants. **Nematoda**, [s. l.], v. 3, p. e92016, 2016. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/312441891_Plants_and_their_medicinal_potential_for_controlling_gastrointestinal_nematodes_in_ruminants_LITERATURE_REVIEW. Acesso em: 22 dez. 2017.

BRANDWEIN, Michael; STEINBERG, Doron; MESHNER, Shiri. Microbial biofilms and the human skin microbiome. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 3, 2016. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41522-016-0004-z>. Acesso em: 19 jun. 2018.

BRAVO, Melina Luz Mary Cruzado. **Estudo genotípico e fenotípico de *Staphylococcus* spp formadores de biofilme isolados em linhas de produção de queijo Minas Frescal e de leite de vacas com mastite no Estado de São Paulo, Brasil**. Orientador: Gilma Lucazechi Sturion. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-31032016-155120/pt-br.php?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 10 jan. 2018.

BROWN, Gordon D. et al. Hidden killers: human fungal infections. *Science Translational Medicine*, [s. l.], v. 4, n. 165, p. 1 - 10, 2012. Disponível em: <https://fungalinfectiontrust.org/wp-content/uploads/2021/04/Hidden-killers-human-fungal-infections.pdf>. Acesso em: 10 out. 2017.

CAJADO, Aurilene Gomes et al. **Efeito antimicrobiano *in vitro* do extrato aquoso e hidroalcoólico das folhas de *Anacardium occidentale* e *Mangifera indica***. [s. l.], v. 18, n. 3, p. 177-182, 2016. Disponível em: <https://journalhealthscience.pgsscogna.com.br/JHealthSci/article/view/3101>. Acesso em: 30 Out. 2017.

CALDERONE, Richard A.; FONZI, William A. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends in Microbiology*, [s. l.], v. 9, n. 7, p. 327-335, 2001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0966842X01020947>. Acesso em: 10 maio 2017.

CAMACHO, Cynthia Obdulia Raquel Cardenas. **Actividad antimicrobiana y antioxidante del extracto etanólico de *Prosopis pallida* “algarrobo”**. Orientador: Julio Reynaldo Ruiz Quiroz. Lima. 2017. Tesis (Licenciatura en Ciencias) – Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo, Perú, 2017.

CARDOSO, Tomé Silva. **Papel do ATP na infecção de macrófagos por *Candida albicans***. Orientadora: Teresa Maria Fonseca de Oliveira Gonçalves. 2013. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade do Minho, Portugal, 2013.

CARRERA, G. C. et al. Testes fitoquímicos em extratos foliares de *Oeceoclades maculata* Lindl. (Orchidaceae). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, [s. l.], v. 16, n. 4, p. 938-944, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/BRvjVjcPTTy7wQrk4q4t3cP/>. Acesso em: 30 dez. 2017.

CASTEJON, Fernanda Vieira. **Taninos e saponinas**. In: Seminário apresentado junto à disciplina Seminários Aplicados do Programa de Pós-Graduação, 2011, Goiânia. **Seminários Aplicados**, Universidade Federal de Goiás, 2011. Disponível em: <https://www.yumpu.com/pt/document/view/39597102/taninos-e-saponinas-ufg>. Acesso em: 13 maio 2018.

CELEBIOGLU, Hasan Ufuk et al. **Plant polyphenols stimulate adhesion to intestinal mucosa and induce proteome changes in the probiotic *Lactobacillus acidophilus* NCFM**. *Molecular Nutrition & Food Research*, [s. l.], v. 62, n. 4, p. 1 - 31, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/321496412_Plant_Polyphenols_Stimulate_Adhesion_to_Intestinal_Mucosa_and_Induce_Proteome_Changes_in_the_Probiotic_Lactobacillus_acidophilus_NCFM. Acesso em: 20 Out. 2018.

CELIS, C. et al. Antimicrobial activity of extracts obtained from *Anacardium excelsum* against some pathogenic microorganisms. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 23, n 3, p. 249-257, 2011. Disponível em: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20113241054>. Acesso em: 20 set. 2017.

CHAE, Lee et al. Genomic signatures of specialized metabolism in plants. **Science**, [s. l.], v. 344, n. 6183, p. 510-513, 2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/262017305_Genomic_Signatures_of_Specialized_Metabolism_in_Plants. Acesso em: 30 dez. 2017.

CHANDRASEKARA, Neel; SHAHIDI, Fereidoon. Effect of roasting on phenolic content and antioxidant activities of whole cashew nuts, kernels, and testa. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 59, n. 9, p. 5006-5014, 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/50865038_Effect_of_Roasting_on_Phenolic_Content_and_Antioxidant_Activities_of_Whole_Cashew_Nuts_Kernels_and_Testa. Acesso em: 10 nov. 2017.

CHIANG, Wen-Chi et al. Extracellular DNA shields against aminoglycosides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 57, n. 5, p. 2352-2361, 2013. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3632962/>. Acesso em: 30 nov. 2107.

CHIPOLINE, Ingrid C.; PACHECO, Paulo Anastácio F. Prêmio Nobel de Medicina de 2015: reconhecida contribuição contra doenças negligenciadas. **Revista Virtual de Química**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 1032-1037, 2016. Disponível em: <https://rvq-sub.s bq.org.br/index.php/rvq/article/view/1561>. Acesso em: 19 set. 2017.

CHITWOOD, David J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 221-249, 2002. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/11234493_Phytochemical_Based_Strategies_for_Nematode_Control. Acesso em: 30 nov. 2017.

CHOMEL, Mathilde et al. Plant secondary metabolites: a key driver of litter decomposition

and soil nutrient cycling. **Journal of Ecology**, [s. l.], v. 104, n. 6, p. 1527-1541, 2016. Disponível em: <https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1365-2745.12644>. Acesso em: 10 out. 2017.

CIOCH, Monika et al. Characterisation of antimicrobial properties of extracts of selected medicinal plants. **Polish Journal of Microbiology**, [s. l.], v. 66, n. 4, p. 463-472, 2017. Disponível em: <http://www.pjmonline.org/wp-content/uploads/archive/vol6642017463.pdf>. Acesso em: 30 dez. 2017.

CIOFU, Oana; TOLKER-NIELSEN, Tim. Antibiotic tolerance and resistance in biofilms. In: BJARNSHOLT, Thomas *et al.* **Biofilm Infections**. New York: Springer, 2010. *E-book*. p. 215 - 230. Disponível em: <https://researchprofiles.ku.dk/en/publications/antibiotic-tolerance-and-resistance-in-biofilms>. Acesso em: 30 de jun. 2018.

CORREIA, Rafael de Oliveira *et al.* **Avaliação in vitro da atividade antifúngica de extratos vegetais frente aos principais microrganismos causadores da candidíase**. Orientador: Marcos Antonio Fernandes Brandão. 2017. Dissertação (Mestrado em Saúde) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufjf.br/jspui/bitstream/ufjf/5934/1/rafaeldeoliveiracorrea.pdf>. Acesso em: 12 out. 2018.

COYNE, D. L.; NICOL, Julie M.; CLAUDIUS-COLE, B. (org.). **Practical Plant Nematology: A Field and Laboratory Guide**. Ibadan, Nigeria: International Institute of Tropical Agriculture (IITA), 2018. *E-book* (97 p.). Disponível em: <https://cgspace.cgiar.org/server/api/core/bitstreams/38fd2c45-16b2-4162-afe5-6c04df022684/content>. Acesso em: 10 jan. 2019.

CROTEAU, Rodney *et al.* Natural products (secondary metabolites). In: **Biochemistry and molecular biology of plants**. [s. l.], v. 24, p. 1250-1319, 2000. Disponível em: <https://www.scrip.org/reference/referencespapers?referenceid=1770695>. Acesso em: 12 out. 2017.

CROXEN, Matthew A. et al. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 26, n. 4, p. 822-880, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24092857/>. Acesso em: 30 dez 2017.

CRUZ, Ana Filipa Daniel da. **Study of Antimicrobial Peptides' Activity Against Bacterial Biofilms**. Orientadora: Ana Salomé Veiga. 2017. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Médica) – Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Portugal, 2017. Disponível em: https://repositorio.ulisboa.pt/bitstream/10451/30408/1/ulfc123924_tm_Ana_Filipa_Cruz.pdf. Acesso em: 13 jan. 2018.

DANTAS, Loane de Sá; DOS SANTOS, Ariane Gomes. Microrganismos mais frequentes e antimicrobianos utilizados em pacientes internados em unidades de terapia intensiva. **Revista Rede de Cuidados em Saúde**, [s. l.], v. 10, n. 3, 2016. Disponível em: <https://publicacoes.unigranrio.edu.br/rcs/article/view/2850>. Acesso em: 15 set. 2017.

DEAN, Lisa L. Targeted and non-targeted analyses of secondary metabolites in nut and seed processing. **European Journal of Lipid Science and Technology**, [s. l.], v. 120, n. 11, p. 1700479, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/327700074_Targeted_and_non-targeted_analyses_of_secondary_metabolites_in_nut_and_seed_processing_Metabolomic_studies_of_nuts_and_seeds. Acesso em: 12 jan. 2019.

DEAN, Scott N.; BISHOP, Barney M.; VAN HOEK, Monique L. Natural and synthetic cathelicidin peptides with anti-microbial and anti-biofilm activity against *Staphylococcus aureus*. **BMC Microbiology**, v. 11, n. 114, p. 1 - 13, 2011. Disponível em: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2180-11-114#citeas>. Acesso em: 16 jul. 2017.

DEBORDE, Catherine et al. Plant metabolism as studied by NMR spectroscopy. **Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy**, [s. l.], v. 102, p. 61-97, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29157494/>. Acesso em: 15 fev. 2018.

DELORME, Christine et al. Genomics of *Streptococcus salivarius*, a major human commensal. **Infection, Genetics and Evolution**, [s. l.], v. 33, p. 381-392, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1567134814003724>. Acesso em: 12 jan. 2017.

DIAS, Tiago et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante em frutos de tomateiros mutantes fotomorfogenéticos. **Ciência Rural**, [s. l.], v. 45, n. 5, p. 782-787, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/276439433_Compostos_fenolicos_e_capacidade_antioxidante_em_frutos_de_tomateiros_mutantes_fotomorfogeneticos. Acesso em: 22 jan. 2017.

DIAS-SOUZA, Marcus V. et al. Antibiofilm activity of cashew juice pulp against *Staphylococcus aureus*, high performance liquid chromatography/diode array detection and gas chromatography-mass spectrometry analyses, and interference on antimicrobial drugs. **Journal of Food and Drug Analysis**, [s. l.], v. 25, n. 3, p. 589-596, 2017. Disponível em: <https://www.jfda-online.com/journal/vol25/iss3/27/>. Acesso em: 12 jan. 2019.

DIAS-SOUZA, Marcus V. et al. Evaluation of antimicrobial and anti-biofilm activities of *Anacardium occidentale* stem bark extract. **Journal of Natural Products**, [s. l.], v. 6, n. 26, p. 198-205, 2013. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/257346232_Evaluation_of_Antimicrobial_and_Anti-biofilm_activities_of_Anacardium_occidentale_stem_bark_extract. Acesso em: 19 jan. 2017.

DOMINGUES, E.A.R.; ALEXANDRE, N.M.C.; SILVA, J.V. Adaptação cultural e validação do Freiburg Life Quality Assessment Wound para a língua portuguesa do Brasil. **Revista Latino-Americana Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 24, p. e2684, jul. 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rlae/a/LMnwR8H4gDtsFJFRWTHDGNk/?lang=en> Acesso em: 17 dez. 2017.

DRESCHER, Knut et al. Solutions to the public goods dilemma in bacterial biofilms.

Current Biology, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 50-55, 2014. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982213012712>. Acesso em: 30 set. 2017.

ELIAS, Susana de Oliveira. **Estudo da Atividade Antibiofilme de Bactérias Antárticas sobre Microrganismos de Importância Médica**. Orientador: Alexandre José Macedo 2011.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Biomedicina.) – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011. Disponível em:

<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/142995/000858274.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 15 out. 2017.

ENGSTROM, M. T. et al. Chemical structures of plant hydrolyzable tannins reveal their in vitro activity against egg hatching and motility of *Haemonchus contortus* nematodes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 64, n. 4, p. 840-851, 2016. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/290509484_Chemical_Structures_of_Plant_Hydrolyzable_Tannins_Reveal_Their_in_Vitro_Activity_Against_Egg_Hatching_and_Motility_of_Haemonchus_contortus_Nematodes. Acesso em: 25 out. 2017.

ESTEVES, André M.; FONSECA-GENEVOIS, Verônica. Os nematódeos e sua importância nos ecossistemas marinhos. **Floresta Ambiente**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 113-120, 2006.

Disponível em: <https://www.floram.org/journal/floram/article/588e2214e710ab87018b4642>. Acesso em: 26 nov. 2017.

FENALTI, Juliana Montelli *et al.* Diversidade das plantas brasileiras com potencial anti-helmíntico. **VITTALLE-Revista de Ciências da Saúde**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 38-49, 2016.

Disponível em: <https://periodicos.furg.br/vittalle/article/view/6188>. Acesso em: 29 out. 2017.

FIN, Mariana de Conto. **Administração em massa de anti-helmínticos para o controle de doenças tropicais negligenciadas: vantagens e desvantagens**. Orientadora: Tiana Tasca. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016. Disponível em:

<https://lume.ufrgs.br/handle/10183/158047>. Acesso em: 13 nov. 2017.

FINKEL, Jonathan S.; MITCHELL, Aaron P. Genetic control of *Candida albicans* biofilm development. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 109, 2011. Disponível em:

<https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/158047/001020520.pdf?sequence=1>. Acesso em: 18 set. 2017.

FLEMMING, Hans-Curt et al. Biofilms: an emergent form of bacterial life. **Nature reviews. Microbiology**, [s. l.], v. 14,9, p. 563-75, 2016. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27510863/>. Acesso em: 12 out. 2018.

FONG, Jiunn NC; YILDIZ, Fitnat H. Biofilm matrix proteins. **Microbiology spectrum**,

[s. l.], v. 3, n. 2, 2015. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.mb->

0004-2014. Acesso em: 15 set. 2017.

FOSTER, Timothy J. *et al.* Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 49, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24336184/>. Acesso em: 22 no. 2017.

FRANCO, Fábio; FERREIRA, Ana Paula do N. Lamano; FERREIRA, Maurício Lamano. Etnobotânica: aspectos históricos e aplicativos desta ciência. **Cadernos de Cultura e Ciência**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 17-23, 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/267926910_ETNOBOTANICA_ASPECTOS_HISTORICOS_E_APLICATIVOS_DESTA_CIENCIA_ETHNOBOTANY_HISTORICAL_ASPECTS_AND_APPLICATIONS_OF_THIS_SCIENCE. Acesso em: 25 jan. 2018.

FREIRE, Juliana Cariry Palhano *et al.* Estudo etnobotânico do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.): uma árvore nativa do Brasil. **Revista Uningá Review**, [s. l.], v. 29, n. 3, 2018. Disponível em: <https://revista.uninga.br/uningareviews/article/view/1984>. Acesso em: 12 jan. 2019.

FURTADO, E.F. **Análise das propriedades antifouling de fios de sutura revestidos com eugenol sobre a formação de biofilmes de streptococcus mutans atc 25175**. Orientador: Victor Alves Carneiro. 2017. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Faculdade de Medicina, Campus de Sobral, Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2017. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/23956>. Acesso em: 20 maio. 2018.

FURTADO, Manuela Almeida Montenegro. **Efeito antimicrobiano do extrato do bagaço de pedúnculo de caju (anacardium occidentale L.) contra streptococcus mutans**. Orientador: Ricardo Pires dos Santos. 2012. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2017. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/26138>. Acesso em: 14 out. 2017.

GANG, Spencer S.; HALLEM, Elissa A. Mechanisms of host seeking by parasitic nematodes. **Molecular and biochemical parasitology**, [s. l.], v. 208, n. 1, p. 23-32, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166685116300585>. Acesso em: 12 jan. 2017.

GAUGLER, Randy; KAYA, Harry K. **Entomopathogenic nematodes in biological control**. Boca Raton: CRC press, 2018. *E-book*. Disponível em: <https://www.taylorfrancis.com/books/edit/10.1201/9781351071741/entomopathogenic-nematodes-biological-control-randy-gaugler>. Acesso em: 16 jan. 2019.

GIL-CHÁVEZ, G. Joana *et al.* Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 5-23, 2013. Disponível em: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1541-4337.12005> Acesso em: 25 maio 2018.

GIMENEZ, Valéria MM *et al.* Antiplasmodial evaluation of *Anacardium occidentale* and alkyl- phenols. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 36-39, 2019. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/QyQNYHy7DCHNsmJsDdcCW5R/abstract/?lang=en>. Acesso em: 05 mar. 2019.

GLAZER, Itamar *et al.* Effects of tannin-rich host plants on the infection and establishment of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. **Journal of invertebrate pathology**, [s. l.], v. 128, p. 31-36, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022201115000312>. Acesso em: 17 set. 2017.

GOMES, Renata Valéria Regis Sousa *et al.* Ação antiparasitária in vitro dos extratos etanólicos de *Operculina hamiltonii* (batata de purga) e *Momordica charantia* (melão de são caetano) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos do semi-árido paraibano. **Acta Veterinaria Brasilica**, [s. l.], v. 4, n. 2, p. 92-99, 2010. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1435385>. Acesso em: 22 nov. 2017.

GONÇALVES, Gisele Mara Silva; GOBBO, Juliana. Antimicrobial effect of *Anacardium occidentale* extract and cosmetic formulation development. **Brazilian archives of Biology and Technology**, [s. l.], v. 55, n. 6, p. 843-850, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/babt/a/pp68dhtNBrgj4PStzGhV5Qd/?lang=en&format=pdf>. Acesso em: 30out. 2017.

GOULART, Alexandre Moura Cintra. Análise nematológica: importância e princípios gerais. **Planaltina: Embrapa Cerrados**, 2010. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/899866>. Acesso em: 12 jan. 2019.

GUSMÃO, Alexandre Oliveira de Meira; SILVA, Antonio Rodrigues da; MEDEIROS, Mauro Osvaldo. A biotecnologia e os avanços da sociedade. **Biodiversidade**, [s. l.], v. 16, n. 1, 2017. Disponível em: <https://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/biodiversidade/article/view/4979>. Acesso em: 12 jun. 2018.

HARLITA, Satuti NHN; SAGI, Mammed; ASTUTI, Pudji. Acute toxicity of cashew nut shell extract (*Anacardium occidentale* L.) in albino rat (*Rattus norvegicus* Berkenhout 1769). **Pakistan J Biol Sci**, [s. l.], v. 19, p. 89-94, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/292160462_Acute_toxicity_of_cashew_nut_shell_extract_Anacardium_occidentale_L_in_albino_rat_Rattus_norvegicus_Berkenhout_1769. Acesso em: 17 jan. 2018.

HÖLL, Janine *et al.* Impact of pulsed UV-B stress exposure on plant performance: How recovery periods stimulate secondary metabolism while reducing adaptive growth attenuation. **Plant cell & environment**, [s. l.], v. 43, n. 3, p. 801 – 814, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30049021/>. Acesso em: 12 jan. 2019.

HUBER, Birgit *et al.* Influence of polyphenols on bacterial biofilm formation and quorum-sensing. **Zeitschrift für Naturforschung C**, [s. l.], v. 58, n. 11-12, p. 879-884, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14713169/>. Acesso em: 20 jun. 2017.

INYANG-ETOH, Paul Columba; OKONKWO, Chidimma Jacinta; EJEZIE, Gabriel Chuks. Influence of anthropometric parameters on the prevalence of urogenital schistosomiasis and intestinal helminthiasis of school age children in Akpet community, Nigeria. **Journal of Medical & Allied Sciences**, [s. l.], v. 8, n. 1, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/323191000_Influence_of_anthropometric_parameters_on_the_prevalence_of_urogenital_schistosomiasis_and_intestinal_helminthiasis_of_school_age_children_in_Akpet_community_Nigeria. Acesso em: 12 jan. 2019.

IWAMOTO, Martha *et al.* Trends in invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. **Pediatrics**, [s. l.], v. 132, p. 817 - 824, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24062373/>. Acesso em: 21 maio 2018.

IWU, Maurice M. **Handbook of African Medicinal Plants**. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2104. *E-Book*. Disponível em: <https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/b16292/handbook-african-medicinal-plants-maurice-iwu>. Acesso em: 30 jun. 2018.

KACI, Ghalia *et al.* Anti-inflammatory properties of *Streptococcus salivarius*, a commensal bacterium of the oral cavity and digestive tract. **Appl. Environ. Microbiol.**, [s. l.], v. 80, n. 3, p. 928- 934, 2014. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3911234/>. Acesso em: 20 jan. 2018.

KAPER, James B.; NATARO, James P.; MOBLEY, Harry LT. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature reviews microbiology**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 123, 2004. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro818>. Acesso em: 30 maio 2018.

KATIKI, Luciana M. *et al.* Anthelmintic effect of plant extracts containing condensed and hydrolyzable tannins on *Caenorhabditis elegans*, and their antioxidant capacity. **Veterinary parasitology**, [s. l.], v. 192, n. 1-3, p. 218-227, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401712005262>. Acesso em: 10 jun. 2018.

KATIKI, Luciana M. *et al.* *Caenorhabditis elegans* as a model to screen plant extracts and compounds as natural anthelmintics for veterinary use. **Veterinary parasitology**, [s. l.], v. 182, n. 2- 4, p. 264-268, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304401712005262>. Acesso em: 10 jun. 2018.

KAYE, Keith S.; POGUE, Jason M. Infections caused by resistant gram-negative bacteria: epidemiology and management. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, [s.l.], v. 35, n. 10, p. 949-962, 2015. Disponível em: <https://accpjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/phar.1636>. Acesso em: 10 out. 2018.

KHAN, Hassan Ahmed; AHMAD, Aftab; MEHBOOB, Riffat. Nosocomial infections and their control strategies. **Asian pacific journal of tropical biomedicine**, [s.l.], v. 5, n. 7, p. 509-514, 2015. Disponível em <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/wpr-672785>. Acesso em: 20 jan. 2018.

KHAN, Hassan Ahmed; BAIG, Fatima Kanwal; MEHBOOB, Riffat. Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, [s.l.], v. 7, n. 5, p. 478-482, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169116309509>. Acesso em: 15 jan. 2018.

KIM, Hwan Keun *et al.* Recurrent infections and immune evasion strategies of *Staphylococcus aureus*. **Current opinion in microbiology**, [s.l.], v. 15, n. 1, p. 92-99, 2012. Disponível em: [tps://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369527411001822](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369527411001822). Acesso em 15 jan. 2018.

KYAW, Bhone Myint *et al.* Bactericidal antibiotic-phytochemical combinations against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s.l.], v. 43, n. 3, p. 938-945, 2012. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3768864/>. Acesso em: 18 jun. 2018.

LAKHUNDI, Sahreena; ZHANG, Kunyan. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. **Clinical microbiology reviews**, [s.l.], v. 31, n. 4, p. e00020-18, 2018. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/cmr.00020-18>. Acesso em 21 jun. 2018.

LE GALL, Hyacinthe *et al.* Cell wall metabolism in response to abiotic stress. **Plants**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 112-166, 2015. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/4/1/112>. Acesso em: 22 jun. 2018.

LEONOV, Anna *et al.* Longevity extension by phytochemicals. **Molecules**, [s.l.], v. 20, n. 4, p. 6544- 6572, 2015. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/20/4/6544>. Acesso em: 10 maio 2018.

LEROY, C. *et al.* Effects of commercial enzymes on the adhesion of a marine biofilm-forming bacterium. **Biofouling**, [s.l.], v. 24, n. 1, p. 11-22, 2008. Disponível em: <https://scispace.com/papers/effects-of-commercial-enzymes-on-the-adhesion-of-a-marine->

obew0vwqx5. Acesso em: 21 jun. 2018.

LI, Yanmei *et al.* Microbial pathogenicity and virulence mediated by integrons on Gram-positive microorganisms. **Microbial pathogenesis**, [s.l.], v. 111, p. 481-486, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0882401017311488>. Acesso em: 30 jan. 2018.

LISTER, Jessica L.; HORSWILL, Alexander R. Staphylococcus aureus biofilms: recent developments in biofilm dispersal. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, [s.l.], v. 4, p. 178, 2014. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/cellular-and-infection-microbiology/articles/10.3389/fcimb.2014.00178/full>. Acesso em: 30 jan. 2018.

LOPES, Inês Aurora Pereira da Silva. **Os produtos de origem vegetal na inovação farmacológica: o caso da Oncologia**. Orientador: Rita Serrano. 2017. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de Lisboa, Portugal, 2017. Disponível em: https://oasisbr.ibict.br/vufind/Record/RCAP_a0449eb229465cbaa3c348ebaf45e861. Acesso em: 30 jul. 2018.

LOPES, Louyse G. *et al.* The intake of dry cashew apple fiber reduced fecal egg counts in Haemonchus contortus-infected sheep. **Experimental parasitology**, [s.l.], v. 195, p. 38-43, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014489418302510>. Acesso em: 15 maio 2018.

MACHADO, Alan Rodrigues Teixeira *et al.* Nematicidal activity of Annona crassiflora leaf extract on Caenorhabditis elegans. **Parasites & vectors**, [s.l.], v. 8, n. 1, p. 113, 2015. Disponível em: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-015-0708-6>. Acesso em: 10 mar. 2018.

MARÍN, Laura *et al.* Bioavailability of dietary polyphenols and gut microbiota metabolism: antimicrobial properties. **BioMed research international**, [s.l.], v. 2015, n. 1, p. 1-18, 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2015/905215>. Acesso em: 20 maio 2018.

MESQUITA, Maria Otammires Mota de *et al.* Potencial antimicrobiano de extratos e moléculas isolados de plantas da Caatinga: uma revisão. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 2. P. 119-249, 2017.

MEYER, B. N. *et al.* Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta medica**, [s.l.], v. 45, n. 05, p. 31-34, 1982. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/51380045_Brine_Shrimp_A_Convenient_General_Bioassay_for_Active_Plant_Constituents. Acesso em: 12 maio 2018.

MONTEIRO, André Silva *et al.* Estudo da atividade antimicrobiana da casca da castanha de caju (*Anacardium occidentale*). **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 3, n. 4, p. 0705-0710, 2017. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/318847911_ESTUDO_DA_ATIVIDADE_ANTIMICROBIANA_DA_CASCA_DA_CASTANHA_DE_CAJU_Anacardium_occidentale. Acesso em: 29 maio 2018.

MONTEIRO, Camila Rothstein Tolentino. **Avaliação de risco microbiológico pela exposição à contaminação no setor de pasteurização de laticínio**. Orientadora: Juliana Vitoria. 2017. Monografia (Especialização em Engenharia de Produção) – Departamento de Engenharia de Produção, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2017. disponível em: https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/23266/2/PG_CEEP_2016_1_06.pdf. acesso em: 15 jun. 2018.

MOREIRA, Layssa Aparecida de Oliveira. **Avaliação da atividade tóxica em artemia salina leach. de extratos de duas espécies da família melastomataceae**. Orientadora: Gracielle Oliveira Sabbag Cunha. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) – Secretaria de Educação Profissional e Tecnológica, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Anápolis, 2013. Disponível em: <https://www.ifg.edu.br/attachments/article/1704/TCC%20-%20Layssa%20Aparecida%20de%20Oliveira%20Moreira.pdf>. Acesso em: mar. 2018

MROCHEN, Daniel M. *et al.* Wild rodents and shrews are natural hosts of *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Medical Microbiology**, [s. l.], v. 308, n. 6, p. 590-597, 2018. Disponível em <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1438422117303867>. Acesso em: 12 jul. 2108.

NADELL, Carey D. *et al.* Extracellular matrix structure governs invasion resistance in bacterial biofilms. **The ISME journal**, [s. l.], v. 9, n. 8, p. 1700 - 1709, 2015. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ismej2014246>. Aceso em: 24 abr. 2018.

NEGRI, Melyssa *et al.* *Candida tropicalis* biofilms: biomass, metabolic activity and secreted aspartyl proteinase production. **Mycopathologia**, [s. l.], v. 181, n. 3-4, p. 217-224, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/284165847_Candida_tropicalis_Biofilms_Biomass_Metabolic_Activity_and_Secreted_Aspartyl_Proteinase_Production. Acesso em: 24 maio 2018.

NERY, P. S. *et al.* Effects of *Anacardium humile* leaf extracts on the development of gastrointestinal nematode larvae of sheep. **Veterinary parasitology**, [s. l.], v. 171, n. 3-4, p. 361-364, 2010. Disponível em <https://www.semanticscholar.org/paper/Effects-of-Anacardium-humile-leaf-extracts-on-the-Nery-Nogueira/a395dd82c1a54f1af19947867179014e0396194d>. Acesso em: 12 maio 2018.

NETEA, Mihai G. *et al.* Immune defence against Candida fungal infections. **Nature Reviews Immunology**, [s. l.], v. 15, n. 10, p. 630 - 642, 2015. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nri3897>. Acesso em 17 jul. 2018.

NETO, Francisco das Chagas Vidal *et al.* Desempenho de Clones de Cajueiro-comum em Pacajus, CE. **Infoteca- e Repositório de Informação Tecnológica da EMBRAPA**, Fortaleza, v. 1, p. 01 -06, 2018. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1090467>. acesso em 17 jul. 2018.

NEVES, Ariana Moraes *et al.* Avaliação da composição química do óleo fixo da amêndoa da castanha do caju (*Anacardium occidentale* L.). **Informativo Técnico do Semiárido**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 54-57, 2015. Disponível em: <https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/INTESA/article/view/3955>. Acesso em 17 jul. 2018.

OKSHEVSKY, Mira; MEYER, Rikke Louise. The role of extracellular DNA in the establishment, maintenance and perpetuation of bacterial biofilms. **Critical reviews in microbiology**, [s. l.], v. 41, n. 3, p. 341-352, 2015. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/1040841X.2013.841639>. Acesso em: 30 maio 2018.

OLLÉ, Michelle de Almeida. *et al.* Uso de antibióticos na alimentação de suínos. Revisão de literatura. **REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria**, [s.l.], v. 18, n. 10, p. 1-18, 2017. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63653470001.pdf>. Acesso em: 30 maio 2018.

OLIVEIRA, Natália de Freitas. **Isolamento dos constituintes do Tegumento da Castanha de Cajú (TCC) e avaliação do seu potencial como antioxidante natural**. Orientadora: Tereza Neuma de Castro Dantas. 2016. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2016. Disponível em: https://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/22768/1/NataliaDeFreitasOliveira_TESE.pdf. acesso em: 10 jan. 2018.

OMEKE, Jacinta Ngozi; ANAGA, Aruh Ottah; OKOYE, John Arinze. Brine shrimp lethality and acute toxicity tests of different hydro-methanol extracts of *Anacardium occidentale* using in vitro and in vivo models: a preliminary study. **Comparative Clinical Pathology**, [s. l.], v. 27, n. 6, p. 1717-1721, 2018. Disponível em: <https://www.springermedicine.com/brine-shrimp-lethality-and-acute-toxicity-tests-of-different-hyd/21218322>. Acesso em: 10 jan. 2018.

OSMARI, Milene Puntel *et al.* Líquido da casca da castanha de caju: características e aplicabilidades na produção animal. **PUBVET**, [s. l.], v. 9, p. 101-157, 2015. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/1581>. Acesso em: 10 jun. 2018.

O'TOOLE, George A. Microtiter dish biofilm formation assay. **Journal of visualized experiments: JoVE**, [s. l.], n. 47, 2011. Disponível em: <https://app.jove.com/v/2437/microtiter-dish-biofilm-formation-assay>. Acesso em: 15 abr. 2018.

O'TOOLE, George; KAPLAN, Heidi B.; KOLTER, Roberto. Biofilm formation as microbial development. **Annual Reviews in Microbiology**, v. 54, n. 1, p. 49-79, 2000. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev.mi.49.100195.003431>. Acesso em: 20 maio 2018.

PAIVA, J. R. de; CRISOSTOMO, J. R.; BARROS, L. de M. **Recursos genéticos do cajueiro: coleta, conservação, caracterização e utilização**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003. 43 p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/426890>. Acesso em: 5 mar. 2018.

PAIVA, FF de A.; GARRUTTI, D. dos S.; NETO, R. M da Silva. Aproveitamento industrial do caju. **Embrapa Agroindústria Tropical-Documentos (INFOTECa-E)**, p. 74. 2000. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/422033>. acesso em: 30 jul. 2018.

PALOQUE, Lucie *et al.* Natural Products as Antiparasitic Agents. In: Mérillon, JM., Riviere, C. (org.). **Natural Antimicrobial Agents**. Springer, Cham. Development and Biodiversity, 2018. p. 215-245. *E-book*. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-67045-4_9#citeas. Acesso em: 20 jul. 2018.

PAPENFORT, Kai; BASSLER, Bonnie L. Quorum sensing signal-response systems in Gram-negative bacteria. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 14, n. 9, p. 576 - 588, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27510864/>. Acesso em: 10 jun. 2018.

PEREIRA, Andréia Vieira *et al.* Taninos da casca do Cajueiro: atividade antimicrobiana. **Revista Agropecuária Técnica**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 121-127, 2015. Disponível em: <https://periodicos.ufpb.br/index.php/at/article/view/23002>. Acesso em: 10 jul. 2018.

PINTO, Gisela Patrícia Neto Magalhães. **Biofilmes e feridas crônicas**. Orientador: Antonio Pedro Fonseca. 2016. Porto. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, 2016. Disponível em: <https://bdigital.ufp.pt/entities/publication/c95f9473-294d-419a-875c-943b0544b279>. Acesso

em: 10 mar. 2018.

POMBO, Joseane Cristina Pinheiro *et al.* Efeito antimicrobiano e sinérgico de óleos essenciais sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, SP, v. 25, n. 2, p. 108–117, 2018. Disponível em: <https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/san/article/view/8651785>. Acesso em: 26 out. 2018

RABIN, Nira *et al.* Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. **Future medicinal chemistry**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. 493-512, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/275046039_Biofilm_formation_mechanisms_and_targets_for_developing_antibiofilm_agents. Acesso em: 20 mar. 2018.

RADULOVIC, N. S. *et al.* Antimicrobial plant metabolites: structural diversity and mechanism of action. **Current medicinal chemistry**, [s. l.], v. 20, n. 7, p. 932-952, 2013. Disponível e: https://www.researchgate.net/publication/267029965_Antimicrobial_Plant_Metabolites_Structural_Diversity_and_Mechanism_of_Action. Acesso em: 10 nov. 2018.

RAZA, A. *et al.* In-vitro and in-vivo anthelmintic potential of different medicinal plants against *Ascaridia galli* infection in poultry birds. **World's Poultry Science Journal**, [s. l.], v. 72, n. 1, p. 115- 124, 2016. Disponível e: <https://www.cambridge.org/core/journals/world-s-poultry-science-journal/article/abs/invitro-and-invivo-anthelmintic-potential-of-different-medicinal-plants-against-ascaridia-galli-infection-in-poultry-birds/BAE2A4A3923415F832C8474BDDC9FFE6>. Acesso em: 10 set. 2018

REZENDE, Fernanda Mendes de *et al.* Vias de síntese de metabólitos secundários em plantas. In: Miguel Peña H. *et al.* (org.). **VI Botânica no Inverno**. São Paulo, SP: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, 2016. *E-book*. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Carolina-Kleingesinds/publication/324744075_Sinalizacao_entre_plantas_e_bacterias/links/5adfdf970f7e9b285945e501/Sinalizacao-entre-plantas-e-bacterias.pdf. Acesso em: 12 jan. 2017.

RICHARDS, Lora A. *et al.* Phytochemical diversity drives plant–insect community diversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 112, n. 35, p. 10973-10978, 2015. Disponível em <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.1504977112>. Acesso em: 10 out. 2018.

RIET-CORREA, Beatriz *et al.* Sistemas produtivos de caprinocultura leiteira no semiárido paraibano: caracterização, principais limitantes e avaliação de estratégias de intervenção. **Pesquisa veterinária brasileira**, [s. l.], v. 33, n. 3, p. 345-352, 2013. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/262518358_Productive_systems_of_dairy_goats_i

n_the_semiarid_of_Paraiba_characterization_major_limiting_factors_and_evaluation_of_intervention_strategies. Acesso em: 15 maio 2018.

RIGBY, Kevin M.; DELEO, Frank R. Neutrophils in innate host defense against *Staphylococcus aureus* infections. **Seminars in immunopathology**, [s. l.], v. 34, p. 237-259, 2012. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00281-011-0295-3#citeas>. Acesso em: 10 jul. 2018.

ROBERTO, Francisca Fernanda da Silva et al. Nematoides gastrintestinais na ovinocultura de corte sob regime de pastejo. **PUBVET**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 1-12, 2018. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/1142>. Acesso em: 12 jan. 2019.

RODRIGUES, Adriane Bandeira; VIEIRA, Reginaldo . A tecnologia na indústria farmacêutica e as doenças negligenciadas: Uma análise preliminar acerca do surto do vírus ebola. **Revista ESPACIOS** [s. l.], v 37, n 34 p. 11, 2016. Disponível em: <https://www.revistaespacios.com/a16v37n04/16370411.html>. Acesso em: 10 out. 2018.

ROY, Ranita *et al.* Strategies for combating bacterial biofilms: a focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. **Virulence**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 522-554, 2018. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5955472/>. Acesso em: 30 maio 2018.

SCHLECHT, Lisa Marie *et al.* Systemic *Staphylococcus aureus* infection mediated by *Candida albicans* hyphal invasion of mucosal tissue. **Microbiology**, [s. l.], v. 161, n. 1, p. 168 -191, 2015. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4274785/>. Acesso em: 12 out. 2018.

SILVA, Gabriela Jorge da; DOMINGUES, Sara. We Are Never Alone: Living with the Human Microbiota. **Frontiers for Young Minds**, [s. l.], v. 5, n. 35, p. 1 - 8, 2017. Disponível em: <file:///C:/Users/malub/Downloads/frym-05-00035.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2019.

SERRANO, L. A. L; PESSOA, P. F. A. P. (org.). **Sistema de produção do caju**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical - Sistema de Produção 1 (INFOTECA-E), 2016. *E-book*. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1052862>. Acesso em: 12 nov. 2018.

SHAGAGHI, Nadin *et al.* Anti-biofilm and sporicidal activity of peptides based on wheat puroindoline and barley hordoindoline proteins. **Journal of Peptide Science**, [s. l.], v. 22, n. 7, p. 492- 500, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/303687212_Anti-biofilm_and_sporicidal_activity_of_peptides_based_on_wheat_puroindoline_and_barley_hordoindoline_proteins. Acesso em: 10 mar. 2018.

SHIN, Byong-Kyu; KWON, Sung Won; PARK, Jeong Hill. Chemical diversity of ginseng saponins from *Panax ginseng*. **Journal of ginseng research**, Seoul - Korea, v. 39, n. 4, p. 287-298, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1226845315000032>. Acesso em: 24 jul. 2018.

SILVA, Nádia Livia Amorim da *et al.* Triagem fitoquímica de plantas de Cerrado, da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, [s. l.], v. 6, n. 2, 2010. Disponível em: <https://scientiaplena.emnuvens.com.br/sp/article/view/22>. Acesso em: 12 out. 2017.

SILVA, Sheila Gomes da; BIESKI, Isanete Geraldini Costa. A importância medicinal dos flavonoides na saúde humana, com ênfase na espécie *Arrabidaea chica* (Bonpl.) B. Verl. **Revista Saúde Viva Multidisciplinar da AJES**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 1 - 11, 2018. Disponível em: <https://www.revista.ajes.edu.br/revistas-noroeste/index.php/revisajes/article/view/2>. Acesso em: 11 jan. 2019.

SILVA, Maria Suênia Pereira da. **Ensaio pré-clínicos com extratos de plantas medicinais do semi-árido nordestino**: contribuição para o tratamento de infecções da cavidade bucal. 2011. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia e Promoção de Saúde) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2011. Disponível em: <http://tede.bc.uepb.edu.br/jspui/handle/tede/1802>. Acesso em: 10 jul. 2018.

SILVA, Matheus *et al.* Avaliação da atividade anti-helmíntica in vitro de extratos vegetais sobre ovos de *Haemonchus contortus*. **Multiciência**, São Carlos, v. 16, p. 23-38, 2017. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1093248>. Acesso em: 10 dez. 2018.

SIMÕES, Manuel; BENNETT, Richard N.; ROSA, Eduardo AS. Understanding antimicrobial activities of phytochemicals against multidrug resistant bacteria and biofilms. **Natural product reports**, [s. l.], v. 26, n. 6, p. 746-757, 2009. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2009/np/b821648g>. Acesso em: 10 dez. 2018.

SOARES, Alexandra MS *et al.* Myracrodruon urundeuva seed exudates proteome and anthelmintic activity against *Haemonchus contortus*. **PloS one**, [s. l.], v. 13, n. 7, p. e0200848, 2018. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0200848>. Acesso em: 10 dez. 2018.

SOARES, Elisângela França *et al.* Potential of breadfruit (*Artocarpus altilis*) latex as a milk-clotting agent. **Ciência Rural**, Santa Maria - RS, v. 45, n. 1, p. 149-154, 2015. Disponível em: <https://go.gale.com/ps/i.do?id=GALE%7CA441911332&sid=googleScholar&v=2.1&it=r&linkaccess=abs&issn=01038478&p=AONE&sw=w&userGroupName=anon%7Ead040235&aty=open-web-entry>. Acesso em: 30 maio 2018.

SPRENGER, L. K. *et al.* Atividade ovicida e larvicida do extrato hidroalcoólico de *Artemisia annua* sobre parasitas gastrintestinais de bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v. 67, n. 1, p. 25-31, 2015. Disponível em: https://www.oasisbr.ibict.br/vufind/Record/UFMG-8_0d0816124c2061ee52e8e9e5d543c7af. Acesso em: 28 maio 2018.

SUNITA, Kumari *et al.* Anthelmintic/larvicidal activity of some common medicinal plants. **European Journal of Biological Research**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. 324-336, 2017. Disponível em: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20183349574>. Acesso em: 18 jul. 2018.

TALWANA, Herbert *et al.* Agricultural nematology in East and Southern Africa: problems, management strategies and stakeholder linkages. **Pest management science**, [s. l.], v. 72, n. 2, p. 226- 245, 2016. Disponível em: <https://scijournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ps.4104>. Acesso em: 19 jul. 2018.

TAN, Yuen Ping; CHAN, Eric Wei Chiang; LIM, Crystale Siew Ying. Potent quorum sensing inhibition by methyl gallate isolated from leaves of *Anacardium occidentale* L.(cashew). **Chiang Mai J Sci**, [s. l.], v. 42, n. 3, p. 650-6, 2015. Disponível em: <https://epg.science.cmu.ac.th/ejournal/journal-detail.php?id=5952>. Acesso em: 19 jul. 2018.

TARIQ, Khurshid A. Anthelmintics and emergence of anthelmintic resistant nematodes in sheep: need of an integrated nematode management. **International Journal of Veterinary Sciences and Animal Husbandry**, [s. l.], v. 2 n. 1, 2017. Disponível em: <https://www.veterinarypaper.com/pdf/2017/vol2issue1/PartA/1-3-31-666.pdf>. Acesso em: 20 maio 2018.

THALLINGER, Barbara *et al.* Antimicrobial enzymes: an emerging strategy to fight microbes and microbial biofilms. **Biotechnology journal**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 97-109, 2013. Disponível em: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/biot.201200313>. Acesso em: 29 jul. 2018.

THEURETZBACHER, Ursula. Global antimicrobial resistance in Gram-negative pathogens and clinical need. **Current opinion in microbiology**, [s. l.], v. 39, p. 106-112, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369527417301042>. Acesso em: 30 maio 2018.

THIMMAPPA, Ramesha *et al.* Triterpene biosynthesis in plants. **Annual Review of Plant Biology**, [s. l.], v. 65, p. 225-257, 2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/260115695_Triterpene_Biosynthesis_in_Plants. Acesso em: 10 out. 2018.

TONG, Steven YC *et al.* Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clinical microbiology reviews**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 603- 661, 2015. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/cmr.00134-14>. Acesso em: 12 ou. 2018.

TRAUNSPURGER, Walter. The biology and ecology of lotic nematodes. **Freshwater Biology**, [s. l.], v. 44, n. 1, p. 29-45, 2000. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2427.2000.00585.x>. Acesso em: 12 ou. 2018.

TRIPATHI, Leena *et al.* Field resistance of transgenic plantain to nematodes has potential for future African food security. **Scientific reports**, [s. l.], v. 5, p. 8127, 2015. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep08127>. Acesso em: 12 dez. 2017.

VAN HUNG, Pham. Phenolic compounds of cereals and their antioxidant capacity. **Critical reviews in food science and nutrition**, [s. l.], v. 56, n. 1, p. 25-35, 2016. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2012.708909?journalCode=bfsn20>. Acesso em: 12 dez. 2017.

VATTEM, D. A. *et al.* Dietary phytochemicals as quorum sensing inhibitors. **Fitoterapia**, [s. l.], v. 78, n. 4, p. 302-310, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0367326X07000792>. Acesso em: 15 dez. 2017.

VIEIRA, Francisco Elvis Ramos. **Physiological quality of cashew seeds, CCP-76 clone, in function of the harvest form and storage time**. Orientadora: M^a Clafrete Cradoso Ribeiro. 2011. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró - RN, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufersa.edu.br/items/c4e9682b-90af-4f42-8eb6-9ab7ec96a9d1>. Acesso em: 10 maio 2018.

VIEIRA, L. da S. Métodos alternativos de controle de nematóides gastrintestinais em caprinos e ovinos. In: Simpósio Internacional sobre caprinos e ovinos de corte - SINCORTE, 3. 2007. João Pessoa. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 2, n. 2, p. 49-56, jun. 2008. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/533824>. Acesso em: 10 dez. 2017.

VILLALBA, Juan J. *et al.* Ruminant self-medication against gastrointestinal nematodes: evidence, mechanism, and origins. **Parasite**, v. 21, 2014. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/264635896_Ruminant_self-medication_against_gastrointestinal_nematodes_Evidence_mechanism_and_origins_a. Acesso em: 10 dez. 2017.

VITA, Gilmar Ferreira *et al.* Atividade anti-helmíntica de *Spigelia anthelmia* no controle de parasitos gastrintestinais de *Gallus gallus*. **Scientia Plena**, v. 15, n. 3, 2019. Disponível em: <https://www.scienciaplenu.org.br/sp/article/view/4659/2146>. Acesso em: 27 mar. 2019.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C. R.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. (Documentos, INFOTECA-E). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/886074>. Acesso em: 10 maio 2018.

WANG, Yi *et al.* Effects of tea extracts on the colonization behaviour of *Candida* species: attachment inhibition and biofilm enhancement. **Journal of medical microbiology**, [s. l.], v. 66, n. 8, p. 1244-1252, 2017. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/319042853_Effects_of_tea_extract_on_the_colonization_behaviour_of_Candida_species_Attachment_inhibition_and_biofilm_enhancement. Acesso em: 27 mar. 2018.

WHITE, Roger L. *et al.* Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, [s. l.], v. 40, n. 8, p. 1914-1918, 1996. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/aac.40.8.1914>. Acesso em: 10 maio 2018.

WINTER, Sebastian E. *et al.* Host-derived nitrate boosts growth of *E. coli* in the inflamed gut. **science**, [s. l.], v. 339, n. 6120, p. 708-711, 2013. Disponível em: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.1232467>. Acesso em: 10 jan. 2019.

WOOD, William Barry. **The nematode *Caenorhabditis elegans***. Nova York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1988. *E-book*. Disponível em: <https://search.worldcat.org/pt/title/1256535546>. Acesso em: 26 mar. 2018.

YOKOMIZO, Gilberto Ken Iti *et al.* GGE biplot for stability and adaptability in cashew tree clones. **Revista Agro@mbiente on-line**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 162-176, 2018. Disponível em: <https://revista.ufr.br/agroambiente/article/view/4887>. Acesso em: 15 fev. 2019.

YUAN, Haidan *et al.* The traditional medicine and modern medicine from natural products. **Molecules**, [s. l.], v. 21, n. 5, p. 559, 2016. Disponível em: https://scispace.com/papers/the-traditional-medicine-and-modern-medicine-from-natural-1g7yky302p?citations_page=172. Acesso em: 16 set. 2017.

ZHANG, Hua; TSAO, Rong. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. **Current Opinion in Food Science**, [s. l.], v. 8, p. 33-42, 2016.

Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214799316300133>.

Acesso em: 18 dez. 2017.

ZHU, Jian-Kang. Abiotic stress signaling and responses in plants. **Cell**, [s. l.], v. 167, n. 2, p. 313-324, 2016. Disponível em: [https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674\(16\)31080-7](https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674(16)31080-7). Acesso

em: