



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE  
E BIOTECNOLOGIA DA REDE BIONORTE**



**BIOPROSPECÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS DO CERRADO MARANHENSE COM  
PROPRIEDADES ANTIOXIDANTE, ANTIBACTERIANA CONTRA *Corynebacterium* spp E  
TOXICIDADE: aporte para o desenvolvimento de novos medicamentos**

**WELLYSON DA CUNHA ARAÚJO FIRMO**

**São Luís-MA  
MARÇO/2018**

**WELLYSON DA CUNHA ARAÚJO FIRMO**

**BIOPROSPECÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS DO CERRADO MARANHENSE COM  
PROPRIEDADES ANTIOXIDANTE, ANTIBACTERIANA CONTRA *Corynebacterium* spp E  
TOXICIDADE: aporte para o desenvolvimento de novos medicamentos**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Maranhão (UFMA), como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia.

Orientadora: Prof.(a). Dr.(a). PRISCILA SOARES SABBADINI.

**São Luís-MA  
MARÇO/2018**

## WELLYSON DA CUNHA ARAÚJO FIRMO

### BIOPROSPECÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS DO CERRADO MARANHENSE COM PROPRIEDADES ANTIOXIDANTE, ANTIBACTERIANA CONTRA *Corynebacterium* spp E

**TOXICIDADE: aporte para o desenvolvimento de novos medicamentos**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Maranhão (UFMA), como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia.

Orientadora: Prof(a). Dr(a). PRISCILA SOARES SABBADINI.

#### **Banca examinadora**

---

Prof(a). Dr(a). Priscila Soares Sabbadini  
Universidade Ceuma  
Orientadora

---

Prof(a). Dr(a). Denise Fernandes Coutinho Moraes  
Universidade Federal do Maranhão

---

Prof(a). Dr(a). Juliana Ribeiro Alves dos Santos  
Universidade Ceuma

---

Prof(a). Dr(a). Cláudia Quintino da Rocha  
Universidade Federal do Maranhão

---

Prof(a). Dr(a). Maria Raimunda Chagas Silva  
Universidade Ceuma

**São Luís-MA**

**MARÇO/2018**

A Deus, que me deu saúde, paciência e perseverança. Em tudo eu sempre via Sua ação providencial principalmente quando surgiram situações aparentemente sem solução.

Dedico a minha avó Antonia Miranda Firmo, o meu muito obrigado, pelo incentivo, carinho, força e por cima de tudo confiança em mim depositado. Por jamais negar o amor e pela generosidade ao me colocar nessa jornada.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Tavanés Firmo e Rosilene Araújo, pelo apoio, obrigado pela força.

Aos meus irmãos, Whallysson Firmo e Vitória Araújo, pelo carinho e amizade.

Ao Márcio Nunes pelo ajuda, apoio e força nesse momento tão especial.

A minha orientadora professora Priscila Soares Sabbadini e “mãe científica”, pela oportunidade e confiança depositada, orientação, dedicação, paciência, motivação e instrução ao longo dessa jornada.

A todos os colegas de turma do doutorado e companheiros desta jornada, em especial a Helmara Diniz, Luana Fontoura e Larissa Sarmento.

Aos queridos amigos do Laboratório de Doenças Bacterianas, Respiratórias e Sistêmicas (LDBRS), Ruana Moraes, Tayná Muniz, Gabrielle Guedes, Eldimara Alves, Nicolly Guerra, Jéssica Silva, Jéssica Mendes, Pedro Cunha e Rodrigo Dutra, Denes Leite, Pamela Viana, Rômulo Maia, por toda ajuda.

Aos colegas do Laboratório de Imunologia e Microbiologia das Infecções Respiratórias (LIMIR), Matheus Alves, Adrielle Zagminan e Aruanã Costa.

A Geysse Ribeiro do laboratório Central Analítica da Universidade Federal do Maranhão, pela ajuda na condução da parte química.

A meus amigos James Diniz e Vanessa Silva pelo o apoio na realização de alguns experimentos, meu muito obrigado.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte.

A professora Denise Coutinho, Maria Raimunda Silva, Juliana Ribeiro e Cláudia Rocha, por toda ajuda.

Aos meus familiares que de perto ou longe, direta ou indiretamente participaram desta formação em especial a minha tia Rosilda Araújo e meu tio Tarcísio Firmo que muito me ajudaram.

A Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA), pela concessão da bolsa.

## RESUMO

FIRMO, Wellyson da Cunha Araújo. **Bioprospecção de plantas medicinais do cerrado maranhense com propriedades antioxidante, antibacteriana contra *Corynebacterium* spp e toxicidade: aporte para o desenvolvimento de novos medicamentos.** 2018. 165f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2018.

*Corynebacterium diphtheriae* é um patógeno emergente, e causa a difteria, doença que está relacionada à produção da toxina diftérica, já apresentou resistência a vários antibióticos, inclusive aos utilizados no tratamento. Diante desse contexto, o presente trabalho teve o objetivo de realizar análise química e o estudo das atividades antioxidante e tóxica de plantas medicinais do cerrado maranhense e a influência nas propriedades biológicas de *Corynebacterium* spp. As folhas de 8 plantas medicinais foram coletadas em Estreito-MA em julho de 2014 e submetidas à secagem. Foram confeccionadas e depositadas exsiccatas, para identificação no Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão. Extratos brutos hidroalcoólicos (EBH) foram obtidos das folhas secas após maceração com etanol 70%, na proporção de 1:10, durante 7 dias, sob agitação diária. Os EBH foram submetidos à análise química por cromatografia líquida de alta eficiência, a determinação de minerais por espectrofotometria de absorção atômica e a testes para detecção de metabólitos secundários, além da quantificação de polifenóis totais e flavanoides. Avaliou a atividade antioxidante (método 2,2-difenil-1-picril-hidrazila [DPPH]; fosfomolibdênio e redução do íon ferroso) e a atividade antibacteriana pela técnica de difusão em ágar e por microdiluição para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) dos EBH contra 14 amostras de *C. diphtheriae*, 1 de *Corynebacterium ulcerans* e 1 de *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, além disso, verificou a interação dos EBH com 6 drogas antibacteriana e a inibição e erradicação do biofilme em superfície de poliestireno. A toxicidade *in vitro* (hemólise e células Vero) e *in vivo* (*Artemia salina* e *Tenebrio molitor*) também foi analisada. Algumas espécies vegetais apresentaram os compostos catequina, naringenina, rutina, quercetina e apigenina e as classes de metabólitos secundários, fenóis, taninos, flavanoides, triterpenos, esteroides, alcaloides, saponinas e cumarinas. Os principais minerais presentes nas plantas foram cálcio e sódio. E *Lafoensia pacari* apresentou os maiores teores de flavanoides ( $6,264 \pm 0,264$  mg/g) e de polifenóis totais ( $65,33 \pm 0,477$  mg/g) e atividade antioxidante com a concentração eficiente ( $CE_{50}$ ) de  $8,258 \mu\text{g/mL} \pm 0,851$  para o método

DPPH. As plantas estudadas apresentaram capacidade de inibir o crescimento de praticamente todas as amostras testadas, contudo, *L. pacari* apresentou o maior halo de inibição (64mm) observado para *C. diphtheriae* e as melhores CIM (0,002mg/mL) e CBM (15,94mg/mL) para *C. diphtheriae* e *C. ulcerans*. O fármaco cefalotina foi o antibacteriano que mais interagiu sinergicamente com os EBH, sendo estes de *Tithonia diversifolia*, *Anacardium occidentale*, *Psidium guajava* e *Passiflora edulis*. As plantas apresentaram capacidade de inibir a formação de biofilme de pelo menos duas amostras bacterianas, principalmente da ATCC 27010, ATCC 27012 e CDC KC279, além disso, esta última amostra bacteriana foi a que mais sofreu influência pelos extratos na erradicação do biofilme. A menor concentração citotóxica (CC<sub>50</sub>) sobre células Vero foi de 112,8±0,06572µg/mL para *T. diversifolia*, da atividade hemolítica (CE<sub>50</sub> 41,36±0,06187µg/mL) e concentração letal frente *A. salina* (CL<sub>50</sub> 129,97±3,8) para *L. pacari*. A menor taxa de sobrevivência de *T. molitor* foi de 50,56% ao injetar o EBH de *P. edulis*. Assim, nota-se que as espécies vegetais estudadas apresentaram propriedades que podem estimular e direcionar o desenvolvimento de novos fármacos mais seguros e eficientes.

**Palavras-chave:** Antibacteriano, Compostos fitoquímicos, Corinebactérias, Plantas, Substâncias citotóxicas.

## ABSTRACT

FIRMO, Wellyson da Cunha Araújo. **Bioprospecção de plantas medicinais do cerrado maranhense com propriedades antioxidante, antibacteriana contra *Corynebacterium* spp e toxicidade: aporte para o desenvolvimento de novos medicamentos.** 2018. 165f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2018.

*Corynebacterium diphtheriae* is an emerging pathogen, and causes diphtheria, a disease that is related to the production of diphtheria toxin, already presented resistance to several antibiotics, including those used in treatment. In view of this context, the present work had the objective of performing chemical analysis and the study of the antioxidant and toxic activities of medicinal plants of the Maranhão savannah and the influence on the biological properties of *Corynebacterium* spp. The leaves of 8 medicinal plants were collected in Estreito-MA in July 2014 and submitted to drying. Exsicates were prepared and deposited for identification in the Seabra Attic Herbarium of the Federal University of Maranhão. Hydroalcoholic crude extracts (HCE) were obtained from dry leaves after maceration with 70% ethanol, at the ratio of 1:10, for 7 days, under daily agitation. The HCE were submitted to chemical analysis by high performance liquid chromatography, the determination of minerals by atomic absorption spectrophotometry and the tests for the detection of secondary metabolites, in addition to the quantification of total polyphenols and flavanoids. It was evaluated the antioxidant activity (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazila [DPPH], phosphomolybdenum and ferrous ion reduction) and antibacterial activity by agar diffusion and microdilution to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimal bactericidal concentration (MBC) of HCE against 14 samples of *C. diphtheriae*, 1 of *Corynebacterium ulcerans* and 1 of *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, also verified the interaction of HCE with 6 antibacterial drugs and the inhibition and eradication of biofilm on the surface of polystyrene. *In vitro* toxicity (hemolysis and Vero cells) and *in vivo* (*Artemia salina* and *Tenebrio molitor*) was also analyzed. Some plant species showed the catechin, naringenin, rutin, quercetin and apigenin compounds and the classes of secondary metabolites, phenols, tannins, flavanoids, triterpenes, steroids, alkaloids, saponins and coumarins. The main minerals present in the plants were calcium and sodium. *Lafoensia pacari* presented the highest levels of flavanoids (6.264±0.264mg/g) and total polyphenols (65.33±0.477mg/g) and antioxidant activity with an effective concentration (EC<sub>50</sub>) of 8.258µg/mL±0.851 for the DPPH method. However, *L.*

*pacari* showed the highest inhibition halo (64mm) observed for *C. diphtheriae* and the best MIC (0.002mg/mL) and MBC (15.94mg/mL) for *C. diphtheriae* and *C. ulcerans*. The cephalothin drug was the antibacterial that most interacted synergistically with the HCE, being these of *Tithonia diversifolia*, *Anacardium occidentale*, *Psidium guajava* and *Passiflora edulis*. The plants had the ability to inhibit the formation of biofilms of at least two bacterial samples, mainly of ATCC 27010, ATCC 27012 and CDC KC279, in addition, this last bacterial sample was most influenced by the extracts in biofilm eradication. The lowest cytotoxic concentration (CC<sub>50</sub>) on Vero cells was 112.8±0.06572µg/mL for *T. diversifolia*, hemolytic activity (EC<sub>50</sub> 41.36±0.06187µg/mL) and lethal concentration against *A. salina* (LC<sub>50</sub> 129.97±3.8) for *L. pacari*. The lowest survival rate of *T. molitor* was 50.56% when injecting the HCE of *P. edulis*. Thus, it is observed that the studied plant species presented properties that can stimulate and direct the development of new drugs safer and more efficient.

**Keywords:** Antibacterial, Phytochemicals compounds, Corynebacteria, Plants, Cytotoxic substances.

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Determinação de flavonoides por mudança de coloração em meio acidificado e alcalinizados .....	46
<b>Quadro 2.</b> Determinação de flavonoides por mudança de coloração após aquecimento em meio acidificado e alcalinizado .....	47

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Levantamento bibliográfico de plantas medicinais que foram utilizadas para o estudo da atividade antibacteriana contra espécies de <i>Corynebacterium</i> .....	31
<b>Tabela 2.</b> Características das amostras de <i>Corynebacterium</i> spp. utilizadas no estudo .....	50
<b>Tabela 3.</b> Características das espécies vegetais, registro e peso seco.....	57
<b>Tabela 4.</b> Determinação dos teores de minerais encontradas nas folhas de plantas medicinais..	58
<b>Tabela 5.</b> Perfis fitoquímicos dos extratos brutos hidroalcoólicos.....	61
<b>Tabela 6.</b> Tempos de retenção registrados por análise de cromatografia líquida de alta eficiência dos compostos padrões utilizados .....	62
<b>Tabela 7.</b> Teores de flavonoides totais e polifenóis totais dos extratos brutos hidroalcoólicos das plantas medicinais .....	66
<b>Tabela 8.</b> Atividade antioxidante dos extratos brutos hidroalcoólicos das plantas medicinais ...	68
<b>Tabela 9.</b> Atividade antibacteriana dos extratos brutos hidroalcoólicos pelo método de difusão em ágar contra <i>Corynebacterium</i> spp .....	72
<b>Tabela 10.</b> Concentração inibitória e bactericida mínima de extratos brutos hidroalcoólicos contra <i>Corynebacterium</i> spp.....	73
<b>Tabela 11.</b> Sinergismo entre os extratos brutos hidroalcoólicos das plantas medicinais com drogas antibacterianas sobre <i>Corynebacterium diphtheriae</i> .....	78
<b>Tabela 12.</b> Avaliação da toxicidade dos extratos brutos hidroalcoólicos das plantas medicinais.....	85

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Análise por cromatografia líquida de alta eficiência dos extratos brutos hidroalcoólicos das plantas medicinais..... 63
- Figura 2.** Inibição da formação de biofilme por *Corynebacterium* spp pelos extratos brutos hidroalcoólicos das plantas medicinais..... 80
- Figura 3.** Erradicação do biofilme por *Corynebacterium* spp pelos extratos brutos hidroalcoólicos das plantas medicinais 80
- Figura 4.** Porcentagem de sobrevivência de larvas de *Tenebrio molitor* após a injeção dos extratos brutos hidroalcoólicos das plantas medicinais ..... 88

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMH	Ágar Muller Hinton
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CAT	Cateter
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CEP	Comité de Ética em Pesquisa
CIM	Concentração inibitória mínima
CIMEB	Concentração inibitória mínima para a erradicação de biofilme
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLSI	<i>Clinical e Laboratory Standards Institute</i>
CMN	<i>Corynebacterium, Mycobacterium e Nocardia</i>
CTA	<i>Cystine Tryticase Agar</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
DO	Densidade Óptica
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPPH	<i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
DTP	Vacina tríplice bacteriana contra tétano, difteria e coqueluche
EAA	espectrofotometria de absorção atômica
EBH	Extrato Bruto Hidroalcolico
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-ácetico
GPx	glutathione peroxidase
INCA	Instituto Nacional do Câncer
LDBRS	Laboratório de Doenças Bacterianas Respiratórias e Sistêmicas
MA	Maranhão
MTT	Brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólico
NCTC	<i>National Collection of Type Cultures</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Tampão fosfato-salino
SOD	superóxido dismutase
TD	Toxina diftérica
TDA	Polipeptídeo de 535 aminoácidos fragmentos A
TDB	Polipeptídeo de 535 aminoácidos fragmentos B

TSA	<i>Trypticase Soy Agar</i>
TSB	<i>Trypticase Soy Broth</i>
UFC	Unidades formadoras de colônias
UFMA	Universidade Federal do Maranhão

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>20</b>
<b>2.1 Uso popular de plantas medicinais .....</b>	<b>20</b>
<b>2.2 Plantas medicinais do cerrado maranhense.....</b>	<b>22</b>
2.2.1 <i>Passiflora edulis</i> Sims (Maracujazeiro) .....	22
2.2.2 <i>Psidium guajava</i> Linnaeus (Goiabeira) .....	22
2.2.3 <i>Anacardium occidentale</i> Linnaeus (Cajueiro).....	22
2.2.4 <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (Nim) .....	23
2.2.5 <i>Plathymenia reticulata</i> Benth (Candeia) .....	24
2.2.6 <i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsley) Gray (Estomazil).....	24
2.2.7 <i>Stryphnodendron coriaceum</i> Benth (Barbatimão).....	24
2.2.8 <i>Lafoensia pacari</i> A. St.-Hil. (Mangabeira) .....	25
<b>2.3 Resistência bacteriana e uso de plantas medicinais.....</b>	<b>25</b>
2.3.1 Biofilmes bacterianos .....	27
2.3.2 Infecções associadas a biofilmes bacterianos .....	28
<b>2.4 Atividade de plantas medicinais sobre <i>Corynebacterium</i> spp.....</b>	<b>29</b>
<b>2.5 Infecções causadas por bactérias do gênero <i>Corynebacterium</i> .....</b>	<b>29</b>
2.5.1 Difteria e <i>Corynebacterium diphtheriae</i> .....	29
<b>2.6 <i>Corynebacterium ulcerans</i> .....</b>	<b>39</b>
<b>2.7 <i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i> .....</b>	<b>41</b>
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>43</b>
<b>3.1 Objetivo geral.....</b>	<b>43</b>
<b>3.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>43</b>
<b>4 JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>44</b>
<b>5 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>45</b>
<b>5.1 Coleta e identificação do material vegetal.....</b>	<b>45</b>
<b>5.2 Preparação dos extratos brutos hidroalcoólicos e determinação do peso seco .....</b>	<b>45</b>
<b>5.3 Estudo químico das espécies vegetais .....</b>	<b>45</b>
5.3.1 Determinação de minerais .....	45
5.3.2 Caracterização fitoquímica .....	46
5.3.2.1 <i>Teste para detecção de fenois e taninos</i> .....	46
5.3.2.2 <i>Teste para detecção de flavonoides</i> .....	46

5.3.2.3 Teste para detecção de triterpenos e esteroides.....	47
5.3.2.4 Teste para detecção de saponinas.....	47
5.3.2.5 Teste para detecção de alcaloides.....	47
5.3.2.6 Teste para detecção de cumarinas.....	47
5.3.3 Caracterização química por cromatografia líquida de alta eficiência.....	48
5.3.4 Determinação dos teores de polifenóis totais e flavonoides totais.....	48
<b>5.4 Avaliação da atividade antioxidante.....</b>	<b>49</b>
5.4.1 Determinação da atividade antioxidante pelo sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH).....	49
5.4.2 Atividade antioxidante pela redução do complexo fosfomolibdênio.....	49
5.4.3 Atividade quelante do íon ferroso II (FIC).....	50
<b>5.5 Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos brutos hidroalcoólicos.....</b>	<b>50</b>
5.5.1 Micro-organismos utilizados no estudo.....	50
5.5.2 Técnica de difusão a partir do poço.....	51
5.5.3 Avaliação da concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima.....	52
5.5.4 Sinergismo entre os extratos brutos hidroalcoólicos e agentes antimicrobianos convencionais pelo teste de difusão em disco (Método de Kirby & Bauer).....	52
5.5.5 Avaliação da atividade antibiofilme dos extratos brutos hidroalcoólicos.....	53
5.5.5.1 Ensaio de inibição da formação do biofilme por <i>Corynebacterium</i> spp.....	53
5.5.5.2 Erradicação do biofilme pré-formado por <i>Corynebacterium</i> spp.....	53
<b>5.6 Avaliação da toxicidade <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>.....</b>	<b>54</b>
5.6.1 Atividade hemolítica.....	54
5.6.2 Ensaio de toxicidade em células Vero via brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólico (MTT).....	54
5.6.3 Ensaio com <i>Artemia salina</i> .....	55
5.6.4 Bioensaio utilizando larvas de <i>Tenebrio molitor</i> .....	55
<b>5.7 Análise estatística.....</b>	<b>55</b>
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>57</b>
<b>6.1 Química das espécies vegetais.....</b>	<b>57</b>
<b>6.2 Capacidade antioxidante das espécies vegetais.....</b>	<b>66</b>
<b>6.3 Atividade antibacteriana, sinergismo e antibiofilme contra <i>Corynebacterium</i> spp.....</b>	<b>70</b>
<b>6.4 Toxicidade das espécies vegetais.....</b>	<b>83</b>
<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>90</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>91</b>

<b>ANEXO A:</b> Parecer consubstanciado do CEP.....	129
<b>ANEXO B:</b> Artigo 1 – Atividade antibacteriana de plantas medicinais: uma prospecção tecnológica.....	130
<b>ANEXO C:</b> Artigo 2 – Análise cromatográfica de extrato de <i>Plathymenina reticulata</i> Benth, bios prospecção das atividades antibacteriana e antibiofilme contra <i>Corynebacterium diphtheriae</i> e bioensaio em <i>Tenebrio molitor</i> .....	140
<b>ANEXO D:</b> Produção científica durante o período de realização do doutorado .....	157

## 1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são usadas para curar doenças desde o aparecimento da espécie humana na terra. Estas contêm em suas essências princípios ativos, os quais, ao serem experimentados no combate às doenças, revelam seu poder curativo (BADKE et al., 2011). Portanto, as plantas medicinais contribuem fortemente para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas por meio de seus metabólitos secundários (CALIXTO, 2005; FIRMO et al., 2011).

Os micro-organismos do gênero *Corynebacterium*, juntamente com os dos gêneros *Mycobacterium* e *Nocardia*, fazem parte do grupo CMN por apresentarem paredes celulares complexas, ácidos micólicos, fator corda, reatividade cruzada, etc (COCITO; DELVILLE, 1985). Segundo “*List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature*”, o gênero *Corynebacterium*, apresenta mais de 100 espécies e de 10 subespécies, sendo, na sua maioria, isoladas de animais ou humanos (KHAMIS; RAOULT; SCOLA, 2004). O gênero compreende bacilos Gram positivos, pleomórficos, aeróbios, desprovidos de mobilidade e capacidade de esporulação. As corinebactérias podem se apresentar individualmente, em pares ou paliçadas. Algumas espécies possuem grânulos metacromáticos, que são reservas de fosfatos de elevada energia (BIBERSTEIN, 1994).

*Corynebacterium diphtheriae* (bacilo diftérico) é a espécie considerada principal agente etiológico da difteria. Devido a sua complexidade bioquímica, a espécie foi subdividida em quatro variedades, hoje classificadas em subespécies: *gravis*, *mitis*, *intermedius* e *belfanti* (CLARRIDGE; SPRIGEL, 1995; FUNKE et al., 1997; FUNKE; BERNARD, 2007). A difteria é uma doença bacteriana toxêmica de evolução aguda com manifestações locais e sistêmicas, podendo levar à formação de uma pseudomembrana de coloração branco-acinzentada, invasiva e muito aderente, que é um dos aspectos da enfermidade em sua forma clássica e pode se estender desde a amígdala até a traqueia (MACAMBIRA; FORMIGA; FORMIGA, 1994; CLARRIDGE; SPRIEGEL, 1995; FORMIGA, 1999).

A doença permanece como uma importante causa de morbidade e mortalidade em todo o mundo (GALAZKA, 2000; KHAN et al., 2007; SANTOS et al., 2015). No Brasil, em 2010, houve um surto epidêmico no estado do Maranhão, atingindo três municípios (Jatobá, Colinas e São Domingos). Foram confirmados 27 casos, a maioria em crianças e adolescentes de até 15 anos, com três óbitos provocados pelo *C. diphtheriae*, sendo que dois indivíduos tinham

histórico de vacinação completa. A subespécie isolada nesse surto foi *intermedius* (SANTOS et al., 2015).

*Corynebacterium ulcerans* pode ocasionar lesões dermonecroticas em decorrência da produção de toxina solúvel diferente da toxina diftérica (GILBERT; STEWART, 1926; DIAS et al., 2011), *C. ulcerans* pode produzir toxina homóloga à Toxina Diftérica (TD), causando quadros de difteria clássica (respiratória e cutânea). Na Inglaterra, 20 casos de difteria foram relatados entre 2007 e 2013 (BOTH et al., 2015), sendo 12 casos causados por *C. ulcerans*. Na Itália, 5 casos de difteria em humanos foram relatados durante a década de 1990, com um caso causado por *C. ulcerans* (VON HUNOLSTEIN et al., 2003). No Brasil em 2015, 4 casos de difteria por *C. ulcerans* foram relatados em Pernambuco, sendo que um paciente veio a óbito (G1-PE, 2015). O micro-organismo também tem sido relacionado com quadros pulmonares diversos (SIEGEL; HAILE, 1985; DESSAU et al., 1995; HOMMEZ et al., 1999; HATANAKA et al., 2003; NUREKI et al., 2007; MATTOS-GUARALDI et al., 2008), além de sinusite necrotizante (WELLINGHAUSEN et al., 2002). Essas infecções humanas, que podem ser fatais, geralmente ocorrem em adultos com contato próximo com animais domésticos como cachorros (LARTIGUE et al., 2005; MATTOS-GUARALDI et al., 2008).

*Corynebacterium pseudodiphtheriticum* é outra espécie importante integrante da microbiota da nasofaringe e orofaringe de humanos. Que tem sido relacionada com quadros de infecções do trato respiratório em pacientes imunocompetentes e, principalmente, imunocomprometidos (MANZELLA et al., 1995; CHINER et al., 1999; CAMELLO et al., 2009; SOUZA et al., 2012; INDUMATHI; SHIKHA; SURYAPRAKASH, 2014). Contudo, o micro-organismo não está restrito apenas a infecção do trato respiratório uma vez que outras infecções de origem não respiratória também são causadas por este organismo, incluindo infecções cutâneas e geniturinárias, bacteremia, endocardite, artrite séptica, osteíte, ceratite, entre outras (GUTIÉRREZ-RODERO, 1999; KEMP et al., 2005; CANTARELLI et al., 2008; GOMPELMANN et al., 2011; ERTURAN; HOLME; IYER, 2012; SOUZA et al., 2012).

A capacidade de desenvolver resistência aos agentes antimicrobianos é uma característica observada em micro-organismos de uma forma geral e o emprego crescente e indiscriminado desses fármacos está associado à emergência de cepas microbianas resistentes (BERQUO et al., 2004). A resistência aos antimicrobianos pode ter uma origem não genética ou pode ser desenvolvida através de base genética durante o tratamento, envolvendo diferentes mecanismos (TAVARES, 2000).

Estudos realizados com amostras de *C. diphtheriae* isoladas de quadros de difteria e de infecções invasivas no continente Europeu demonstraram a circulação de amostras

atoxinogênicas e toxinogênicas exibindo tolerância à penicilina, eritromicina, lincomicina e rifampicina (PATEY et al., 1995). A investigação da sensibilidade aos antimicrobianos de amostras de bacilo diftérico isoladas no Brasil evidenciou resistência bacteriana ao antibiótico penicilina (PEREIRA, 2001), a clindamicina e tetraciclina (SANTOS et al., 2015). Camello et al. (2009) mostraram perfis de resistência de *C. pseudodiphtheriticum* para oxacilina, eritromicina, clindamicina, penicilina e ampicilina. Além disso, já foi observado resistência a neomicina para corineformes (ISHII; FREITAS; ARIAS, 2011).

Tendo em vista que bactérias resistentes a múltiplos antimicrobianos representam um desafio no tratamento de infecções, é notória a necessidade de encontrar novas substâncias com propriedades antimicrobianas para serem utilizadas no combate a esses micro-organismos (PEREIRA et al., 2004).

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Uso popular de plantas medicinais

A biodiversidade pode ser analisada pelo seu papel evolutivo, ecológico ou como recurso biológico. Em relação à expressão recursos biológicos, identifica-se os componentes do meio ambiente que têm uma utilização direta, indireta ou potencial para a humanidade, como, por exemplo, as plantas medicinais (LÉVÊQUE, 1999). De acordo com Lopes (2005), planta medicinal é toda planta que administrada ao homem ou animal, por qualquer via ou forma, exerça alguma ação terapêutica.

As plantas medicinais correspondem às mais antigas “armas” empregadas pelo homem no tratamento de enfermidades de todos os tipos, ou seja, a utilização de plantas na prevenção e/ou na cura de doenças é um hábito que sempre existiu na história da humanidade (MACIEL et al., 2002). Indícios do uso de plantas medicinais e tóxicas foram encontrados nas civilizações mais antigas, servindo como importante fonte de compostos biologicamente ativos (ANDRADE; CARDOSO; BASTOS, 2007).

Nas últimas décadas, houve crescimento no interesse pelo uso de plantas medicinais e dos respectivos extratos na terapêutica, constituindo, em certas circunstâncias, uma ajuda nos cuidados primários de saúde e um complemento terapêutico, compatível com a medicina convencional. Para isso, deve haver garantia de segurança em relação a efeitos tóxicos, além de conhecimentos sobre efeitos secundários, interações, contraindicações, mutagenicidade, dentre outros. A existência de ensaios farmacológicos e experimentação clínica que demonstrem eficácia para este tipo de medicamento também é de extrema importância (ARAÚJO et al., 2007).

O conhecimento popular sobre a utilização de plantas medicinais como meio terapêutico é mantido através da tradição oral e, por conta deste fator, há carência do conhecimento científico de suas propriedades farmacológicas e toxicológicas e pouca informação é comprovada sobre os efeitos benéficos e maléficos (OLIVEIRA; ARAÚJO, 2007). Muitas vezes, as propriedades farmacológicas anunciadas não possuem validação científica, por não terem sido investigadas ou comprovadas em testes pré-clínicos e clínicos. Além disso, verifica-se também escasso conhecimento a respeito dos constituintes responsáveis pela atividade farmacológica, ou as possíveis interações que envolvam as inúmeras moléculas presentes no extrato da planta (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006).

A domesticação, a produção, os estudos biotecnológicos e o melhoramento genético de plantas medicinais podem oferecer vantagens, uma vez que torna possível obter

uniformidade e material de qualidade que são fundamentais para a eficácia e segurança (CALIXTO, 2000). Mesmo assim, as pesquisas científicas que visam à validação do uso de plantas são recentes e as práticas populares relacionadas ao seu uso são o que muitas comunidades têm como alternativas viáveis para o tratamento de doenças ou manutenção da saúde (PINTO; AMOROZO; FURLAN, 2006).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que 80% da população mundial usam recursos das medicinas populares para suprir necessidades de assistência médica privada, podendo girar em torno de aproximadamente 22 bilhões de dólares (YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO, 2001).

No século XIX o empirismo da alquimia foi suplantado pela química experimental que permitiu a síntese laboratorial de novas substâncias orgânicas. Esse fato foi um dos fatores determinantes da revolução industrial e tecnológica que desencadeou a produção acelerada de novos medicamentos e, à medida que derivados mais puros e concentrados de plantas se tornaram disponíveis, os médicos priorizaram as drogas sintéticas e passaram a desconsiderar o papel importante da fitoterapia (SIMÕES; SCHENKEL; SIMON, 2001).

Há alguns anos, percebe-se o interesse governamental e profissional em associar o avanço tecnológico ao conhecimento popular e ao desenvolvimento sustentável, visando a uma política de assistência em saúde eficaz, abrangente, humanizada e independente da tecnologia farmacêutica (FRANÇA et al., 2008).

Inúmeros estudos científicos vêm sendo feitos no sentido de validar as informações populares referentes ao uso de plantas medicinais. Podemos mencionar o atual e intenso interesse que os cientistas, bem como a indústria farmacêutica denotam ao desenvolverem pesquisas com o objetivo de descobrir novos princípios ativos e também aprimorar as descobertas de novas atividades farmacológicas de substâncias já conhecidas e oriundas de plantas. Verifica-se que os segmentos acima citados demonstram preocupação quanto ao desenvolvimento de técnicas de isolamento e identificação, produção e cultivo de drogas (origem vegetal), biogênese de princípios ativos e outros métodos que levam ao melhoramento de seus produtos (GURIB-FAKIM, 2006). Tem-se verificado o uso popular de plantas com a finalidade de obtenção dos mais variados efeitos medicamentosos, incluindo sua aplicação como antimicrobianos (NOUMEDEM et al., 2013).

## 2.2 Plantas medicinais do cerrado maranhense

### 2.2.1 *Passiflora edulis* Sims (Maracujazeiro)

*Passiflora edulis* Sims, conhecida vulgarmente como maracujá, é a espécie mais comum no Brasil (BEZERRA et al., 2006), pertencente à família Passifloraceae, que possui aproximadamente 16 gêneros e 650 espécies, sendo o gênero *Passiflora* considerado o mais importante, com cerca de 400 espécies (RIBEIRO et al., 2005; CARLINI et al., 2006).

A planta cresce essencialmente nas regiões tropicais, mas também está presente nas áreas subtropicais e temperadas do mundo (SILVA et al., 2006). Seus frutos são saborosos e muito usados como alimento (GOMES et al., 2006), têm amplo uso na medicina popular, sendo suas partes aéreas utilizadas tradicionalmente na Europa e na América no tratamento da ansiedade, insônia e irritabilidade (AGRA et al., 2007). Outras propriedades descritas são as analgésicas, antipiréticas, antiinflamatórias e parassimpaticolíticas (MORAIS et al., 2005). Substâncias químicas, que são nela encontradas, incluem alcaloides (harmana, harmina, harmalina e harmol), flavonoides e carotenoides (BEZERRA et al., 2006).

### 2.2.2 *Psidium guajava* Linnaeus (Goiabeira)

*Psidium guajava* L., conhecida popularmente como goiabeira, apresenta-se na natureza em forma de arbusto perene da família Myrtaceae. É uma árvore frutífera, originária das Américas Central e do Sul, cultivada em todos os países de clima tropical. Produz um fruto de importância para as regiões subtropicais e tropicais, não só devido ao seu valor nutritivo, mas também pela excelente aceitação para o consumo *in natura* e grande aplicação industrial (NETTO, 1996; NASCIMENTO; ARAÚJO; MELO, 2010)

Esta espécie é usada na medicina popular contra cólicas, colite, diarreia, disenteria e dor de barriga (CARVALHO et al., 2002; VENDRUSCOLO et al., 2005; TÔRRES et al., 2005; ALVES et al., 2006). Esta espécie, além de possuir quantidade regular de ácidos, açúcares e pectinas, apresenta em sua constituição taninos, flavonoides, óleos essenciais, alcoois sesquiterpenoides e ácidos triterpenoides (IHA et al., 2008; NASCIMENTO; ARAÚJO; MELO, 2010).

### 2.2.3 *Anacardium occidentale* Linnaeus (Cajueiro)

*Anacardium occidentale* L., pertencente à família Anacardiaceae, que é constituída por cerca de 76 gêneros e 600 espécies. O gênero *Anacardium* possui 11 espécies descritas e *A. occidentale* é seu representante mais conhecido (CORREIA; DAVID; DAVID, 2006). O

cajueiro como é conhecido popularmente é originária do Brasil, contudo, hoje está disseminada por todas as regiões tropicais do globo. Devido ao sabor e valor nutricional de suas amêndoas e pendúculos (pseudofruto), é bastante utilizado, sendo uma cultura de grande importância sócio-econômica para o Brasil (AGOSTINI-COSTA et al., 2004).

Na medicina tradicional, principalmente no Nordeste brasileiro, já foram descritos efeitos terapêuticos para aliviar dor de dente, como anti-inflamatório para gengiva e garganta, bronquites, artrites, cólicas intestinais, icterícia, contra diabetes, asma e até mesmo usado como afrodisíaco (AGRA et al., 2007). Na literatura, encontram-se atividades farmacológicas comprovadas, como sendo o cajueiro uma planta anti-inflamatória (FALCÃO et al., 2005), antidiabética (BARBOSA FILHO et al., 2005); inibidor da enzima acetilcolinesterase (BARBOSA FILHO et al., 2006) e substâncias isoladas do fruto demonstraram ser inibidoras de tirosinase (KUBO et al., 1994). Podem ser encontrados na espécie compostos fenólicos e catecólicos, ou a mistura destas substâncias, denominados lipídios fenólicos (PORTO et al., 2008; CHAVES et al., 2010).

#### 2.2.4 *Azadirachta indica* A. Juss (Nim)

*Azadirachta indica* A. Juss é conhecida no vernáculo como nim, neen, margosa, nime, lila índio, ou ainda por *Melia azadirachta* L., *Melia indica* (A. Juss.) Brandis e *Antelaea azadirachta* (L.) Adelb. (KOUL et al., 1990; BENÍCIO; QUEIROGA NETO; SOUSA, 2010). É uma planta pertencente à família Meliaceae (MOSSINI; KEMMELMEIER, 2005), é originária do Sudeste da Ásia e amplamente distribuída na África, Austrália, América Latina e outras partes tropicais do mundo (PEREIRA et al., 2009).

Esta planta possui diversas aplicações, sendo utilizada na medicina indígena para o tratamento de várias doenças humanas, especialmente contra enfermidades originárias por bactérias e fungos (LUO et al., 2000; EMERENCIANO et al., 2013). Ações antisséptica, curativa, vermífuga (BENOITVICAL et al., 2003; PEREIRA et al., 2009), antiúlcera, anti-inflamatória, anti-infertilidade, hipolipidêmica e hepatoprotetora já foram descritas (MOSSINI; KEMMELMEIER, 2005).

Muitos compostos ativos já foram isolados da árvore, sendo que a azadiractina, encontrada principalmente nas sementes, é considerada o composto mais potente. A atividade biológica não apenas do óleo essencial extraído das sementes, mas também de extratos de folhas, extrato de sementes e da torta tem sido demonstrada (CARNEIRO; PIGNONI; GOMES, 2008; ARAÚJO et al., 2014).

### 2.2.5 *Plathymenia reticulata* Benth (Candeia)

*Plathymenia reticulata* Benth, pertencente à família Fabaceae (FERNANDES, 2002; FERNANDES; SANTOS; PIMENTA, 2005), é conhecida como vinhático-do-campo, vinhático-do-cerrado ou candeia, é uma planta típica do cerrado, ocorre desde o Amapá até São Paulo, sendo encontrada em todos os estados da região Centro Oeste (ALMEIDA et al., 1998; LOPES; FREITAS; LEMOS, 2010). Sua importância econômica é devida à madeira de alta qualidade e ao uso potencial em recuperação de áreas degradadas (BRAGA et al., 2007; MOURA et al., 2012).

É utilizada ainda como planta medicinal e possui propriedades antiinflamatórias e antimicrobianas (FERNANDES et al., 2005; MOURA et al., 2012). Existem registros relacionando as características químicas de *P. reticulata* de possui como componentes químicos taninos e flavonoides (FERNANDES, 2002), bem como a descrição de dois diterpenos cassânicos (LEAL et al., 2003; FERNANDES; SANTOS; PIMENTA, 2005).

### 2.2.6 *Tithonia diversifolia* (Hemsley) Gray (Estomazil)

*Tithonia diversifolia* (Hemsley) Gray é originária da América Central, tendo sido naturalizada nos trópicos (OWOYELE et al., 2004). É uma planta herbácea pertencente à família Asteraceae, conhecida popularmente como margaridão, girassol-mexicano. É muito utilizada como cerca viva para paisagismo devido à suas belas flores e exuberância peculiar (AMBRÓSIO et al., 2007).

Possui algumas propriedades farmacológicas que favorecem o emprego na medicina popular como antimalárico, anti-inflamatória, antidiarreica, antiamélica, antimicrobiana e espasmolítica (LOURENÇO et al., 2015) e isso é devido seus extratos apresentarem alguns metabólitos, tais como terpenoides, diterpenos e as lactonas sesquiterpênicas, que favorece essas propriedades farmacológicas (GOBBO NETO et al., 2008; PAULA, 2010).

### 2.2.7 *Stryphnodendron coriaceum* Benth (Barbatimão)

*Stryphnodendron coriaceum* Benth, conhecido popularmente como barbatimão (MOTA et al., 2008; OLIVEIRA, 2011), é uma árvore mediana comum dos tabuleiros litorâneos e nos cerrados (MATOS, 1997), apresentando distribuição na América Tropical (MABBERLEY, 1997). No Brasil, nas regiões Nordeste, Sudeste e Sul são reconhecidas cinco espécies do gênero *Stryphnodendron*: *S. coriaceum* Benth.; *S. barbadetiman* (Vell.) Mart.; *S. polyphyllum* Mart.; *S. rotundifolium* Mart. e *S. obovatum* Benth (SANCHES et al., 2007).

O uso dessa planta tem sido relatado no tratamento de diversas doenças, já foi descrita atividade antiséptica, antidiarreica, cicatrizante e antimicrobiana (SILVA, 1996), além de adstringente (MATOS, 1997; RICARDO, 2010) e isso se deve aos seus constituintes químicos, que são na sua maioria taninos, como compostos fenólicos, óleos essenciais, resinas e mucilagens, favorecendo o emprego na medicina tradicional (LIMA; AMORIM, 1998).

#### 2.2.8 *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. (Mangabeira)

*Lafoensia pacari* pertence à família Lythraceae, a qual é representada por cerca de 600 espécies (MUNDO; DUARTE, 2007). Conhecida popularmente por mangaba brava, pacari ou dedaleiro (GALDINO et al., 2009). Tem distribuição geográfica na América Central e América do Sul, sendo encontrada no cerrado brasileiro (CABRAL; PASA, 2009; TONELLO, 1997). Pode ser observada no Distrito Federal e nos estados da Bahia, Goiás, Minas Gerais, Maranhão, Mato Grosso, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina, Amapá, Pará, Rio Grande do Sul (PROENÇA et al., 2000; CARVALHO, 1994). A árvore é recomendada para arborização urbana (usadas em paisagismo urbano devido suas flores grandes branco-amareladas) (SCHEER et al., 2012; FIRMO; MIRANDA; OLEA, 2016), além de ser usada na medicina tradicional brasileira para o tratamento de câncer, distúrbios gástricos, inflamação e cicatrização (SOLON et al., 2000). Os principais compostos ativos evidenciaram na planta a presença de taninos, flavonoides, saponinas, esteroides, triterpenoides e alcaloides (VIOLANTE et al., 2009).

### 2.3 Resistência bacteriana e uso de plantas medicinais

As doenças infecciosas representam uma importante causa de morbidade e mortalidade entre humanos, especialmente nos países em desenvolvimento (NASCIMENTO et al., 2000). A resistência a drogas por patógenos humanos e animais é um dos casos mais bem documentados de evolução biológica (DUARTE, 2006), assim, as indústrias farmacêuticas têm sido motivadas para o desenvolvimento de novas drogas antimicrobianas (NASCIMENTO et al., 2000).

A resistência bacteriana é uma das principais causas de emergência das doenças infecciosas e do aumento dos custos em saúde decorrentes da redução das opções terapêuticas eficazes contra os micro-organismos resistentes. Tal aumento de resistência dos micro-organismos aos antibióticos comumente usados é, atualmente, uma preocupação da saúde pública tanto nos países desenvolvidos quanto países em desenvolvimento (LEANDRO et al., 2013). O uso abusivo e indiscriminado de antimicrobianos tem proporcionado o surgimento

de resistência dos micro-organismos aos fármacos de uso corrente (QUEIROZ et al., 2014). O surgimento e a disseminação de resistência bacteriana ocorrem por diferentes mecanismos normalmente relacionados à pressão seletiva e também devido ao uso incorreto de antibióticos (MARTINEZ et al., 2009).

Além disto, as condições precárias de saneamento e habitação, falta de infraestrutura, desnutrição, alimentos contaminados, sistemas de saúde ausentes ou deficientes, são fatores que contribuem para a seleção e propagação de cepas bacterianas resistentes, cuja susceptibilidade à antimicrobianos pode ser alterada por mutações espontâneas (de novo) ou transferência horizontal de genes de resistência (ALVAN et al., 2011).

A resistência bacteriana pode surgir por aquisição de mutações ou por aquisição de material genético de outras bactérias. Os genes que codificam proteínas envolvidas nos mecanismos de resistência podem estar localizados no cromossomo ou em elementos extra cromossômicos, como os plasmídeos e os transposons, que se movimentam com facilidade de uma cepa para outra, de uma espécie para outra, ou mesmo de um gênero a outro (TAVARES, 2001; ROSSI; ANDREAZI, 2005).

A incidência de surtos bacterianos associada a taxas crescentes de resistência bacteriana têm preocupado as autoridades da saúde, representando gastos econômicos e perda de produtividade para as populações. Ainda, o fluxo de pessoas, bens de consumo e alimentos característicos de um mercado globalizado aumentam as possibilidades destes surtos alcançarem grandes proporções rapidamente ao redor do mundo (BUSH et al., 2011).

Apesar da disponibilização de novos antibióticos, a resistência bacteriana ocorre em ritmo crescente nos diferentes patógenos Gram positivos e Gram negativos e representa um grande desafio terapêutico, e o uso de antimicrobianos no futuro é incerto (ROSSI; ANDREAZI, 2005), pois são frequentes os relatos sobre isolamentos de bactérias que eram reconhecidamente sensíveis as drogas de uso na rotina, mas que se tornam resistentes a todos, ou a quase todos, fármacos disponíveis no mercado (SAKAGAMI; KAJAMURA, 2002).

Portanto, devem ser tomadas atitudes que possam reduzir este problema como, por exemplo, controlar o uso de antibióticos e, desenvolver pesquisas para melhor compreensão dos mecanismos genéticos de resistência e continuar o estudo de desenvolvimento de novas drogas, tanto sintéticas como naturais (NASCIMENTO et al., 2000; HAIDA et al., 2007).

A necessidade de encontrar novas substâncias com propriedades antimicrobianas para serem estudadas no combate a esses micro-organismos representa um desafio no tratamento de infecções (CATÃO et al., 2005). Nesse sentido, as plantas constituem-se importantes

fontes de substâncias biologicamente ativas, servindo para o desenvolvimento e a síntese de um grande número de fármacos (SANDES; DIBLASI, 2000; HAIDA et al., 2007).

Plantas superiores e aromáticas são amplamente utilizadas na medicina popular, uma vez que apresentam amplo espectro de atividade e inibição comprovada contra bactérias e fungos (HULLIN et al., 1998; DUARTE, 2006). Atualmente, estudos sobre atividades de produtos naturais têm sido enfatizados e eles buscam, principalmente, a atividade destes sobre micro-organismos, uma vez que as drogas existentes se tornam menos eficazes diante dos mecanismos de resistência (COUTINHO et al., 2004).

De acordo com González-Lamothe et al. (2009), os produtos do metabolismo secundário acumulado pelas plantas podem atuar de duas formas: como “potencializadores de atividade antibacteriana”, favorecendo a atividade de antibióticos cuja ação encontra-se limitada por mecanismos de multirresistência desenvolvidos pelos micro-organismos; ou como “atenuantes de virulência”, adequando a resposta do sistema imune do hospedeiro à infecção.

O uso de plantas medicinais como agentes antimicrobianos apresenta como principais características a sua origem natural, o que significa mais segurança para os usuários e o meio ambiente; e um baixo risco de aumento da resistência microbiana à sua ação (DAFERERA et al., 2003; QUEIROZ et al., 2014).

### 2.3.1 Biofilmes bacterianos

Bactérias sobrevivem em sistemas naturais de uma forma totalmente diferente daquelas cultivadas em laboratórios em meios artificiais. Para persistir em ambientes hostis, como em tecidos do hospedeiro (onde há a presença de anticorpos e fagócitos) ou em superfícies inertes expostas a condições inóspitas (como luz ultravioleta, dessecação, calor e frio), elas se adaptaram formando biofilmes (OLSON et al., 2002).

Biofilmes são sistemas biológicos com elevado nível de organização, onde micro-organismos formam comunidades estruturadas e funcionais, envolvidas por uma complexa matriz extracelular de substâncias poliméricas fixadas a superfícies bióticas ou abióticas. Assim, garantem o estabelecimento de um sistema de comunicação que coordena atividades metabólicas para benefício mútuo, bem como a produção de fatores de virulência que facilitam a disseminação no hospedeiro (STOODLEY et al., 2002).

Em geral, as etapas de desenvolvimento de um biofilme microbiano incluem: (i) a fixação inicial reversível a uma superfície, seguida pela (ii) fixação irreversível e formação de microcolônias, (iii) maturação das microcolônias em um biofilme maduro envolto em

exopolissacarídeos (EPS), e, finalmente, (iv) a dispersão, onde células individuais ou em grupos se desprendem do biofilme, retornando ao modo de vida planctônico e, portanto, fechando o ciclo de desenvolvimento de um biofilme (STOODLEY et al., 2002). Acredita-se que o processo começa quando as bactérias sentem certos parâmetros ambientais que acionam a transição do crescimento planctônico à vida em uma superfície (DAVEY; O'TOOLE, 2000).

### 2.3.2 Infecções associadas a biofilmes bacterianos

Casos de infecção associada a biofilmes bacterianos incluem exemplos bem conhecidos de infecções relacionadas a dispositivos médicos, como cateteres, articulações artificiais, válvulas cardíacas prostéticas, próteses artificiais e lentes de contato. A organização em biofilme protege os micro-organismos do sistema imune do hospedeiro e da ação de substâncias antimicrobianas (FUX et al., 2005).

Estima-se que 60% das infecções bacterianas e 65% das infecções nosocomiais estejam associadas à formação de biofilme, como por exemplo: cáries (*Streptococcus* spp. acidogênicos), periodontite (bactérias Gram-negativas orais), fascite necrotizante (*Streptococcus pyogenes*), prostatite bacteriana (*Escherichia coli* e outras bactérias Gram-negativas), pneumonia em pacientes com fibrose cística (*Pseudomonas aeruginosa* e *Burkholderia cepacia*), endocardite bacteriana (*Streptococcus* do grupo *viridans* e *Staphylococcus* spp.), mastite (*Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*), linfadenite (*Corynebacterium pseudotuberculosis*), enterite (*E. coli*, *Salmonella* spp.), infecções de ferida (*S. aureus*, *P. aeruginosa*) (FUX et al., 2005) e de sítio de inserção de cateter (*C. diphtheriae*) (GOMES et al., 2009).

Mesmo em pacientes com excelentes respostas imunes celulares e humorais, as infecções relacionadas a biofilmes bacterianos são raramente resolvidas pelos mecanismos de defesa do hospedeiro. Na verdade, elas são geralmente crônicas e de difícil tratamento, apresentando sintomas recorrentes, mesmo após ciclos de terapia antimicrobiana, sendo eliminadas do corpo muitas vezes somente cirurgicamente ou com altíssimas doses de agentes quimioterápicos. Por tudo isso, o custo do tratamento destas infecções é elevado: cerca de um bilhão de dólares por ano (POTERA, 1999).

Crescentes são os dados *in vitro* que indicam que micro-organismos em biofilmes (sésseis) podem se tornar substancialmente mais resistentes à ação de agentes antimicrobianos que aqueles cultivados planctonicamente (GOMES et al., 2013).

Para alguns antibióticos, a concentração necessária para eliminar bactérias sésseis pode ser até mil vezes maior que aquela para eliminar as formas planctônicas. Portanto, o uso de testes laboratoriais que selecionam quimioterápicos somente com base em fenótipos planctônicos pode ser inadequado em algumas circunstâncias, gerando controvérsias sobre sua utilidade clínica (OLSON et al., 2002). Nesse sentido, o estudo de testes de susceptibilidade simples que possam detectar a concentração inibitória mínima para a erradicação de biofilme (CIMEB) representa um passo importante para os laboratórios de microbiologia clínica e certamente terá um impacto positivo na conduta médica frente aos pacientes, permitindo estabelecer a terapia antimicrobiana adequada para impedir o desenvolvimento de resistência (FUX et al., 2005).

#### **2.4 Atividade de plantas medicinais sobre *Corynebacterium* spp**

A necessidade de encontrar alternativas para o controle microbiano tem direcionado muitas pesquisas no sentido de buscar produtos que sejam eficazes, econômicos e ecologicamente viáveis. Estudos realizados com produtos naturais possuindo atividade biológica têm sido direcionados no sentido de oferecer alternativas confiáveis para o controle microbiano, principalmente a partir de produtos bioativos obtidos de plantas com propriedades terapêuticas de uso rotineiro (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2002).

A Tabela 1 mostra as espécies vegetais que inibiram diferentes amostras de *Corynebacterium*.

#### **2.5 Infecções causadas por bactérias do gênero *Corynebacterium***

##### **2.5.1 Difteria e *Corynebacterium diphtheriae***

A difteria é uma doença bacteriana toxêmica de evolução aguda, que permanece como uma importante causa de morbidade e mortalidade em todo o mundo, inclusive em países em que foram implantados programas de imunização da população infantil contra o agravo da doença (GALAZKA, 2000; KHAN et al., 2007; MAN et al., 2010; SANTOS et al., 2015). Apesar dos relevantes conhecimentos adquiridos durante os anos em diferentes áreas, as estratégias disponíveis para erradicar a doença ainda são insuficientes (MATTOS-GUARALDI; HIRATA JÚNIOR; DAMASCO, 2011).

O principal agente etiológico da difteria é *C. diphtheriae*, que compreende bacilos Gram positivos, pleomórficos, aeróbios, desprovidos de mobilidade e capacidade de esporulação. Esta espécie foi caracterizada em quatro subespécies - *gravis*, *mitis*, *intermedius*

e *belfanti* (CLARRIDGE; SPRIGEL, 1995; FUNKE et al., 1997; FUNKE; BERNARD, 2007).

As manifestações locais e sistêmicas da difteria têm sido relacionadas à ação da TD, que é o fator de virulência mais bem estudado do *C. diphtheriae* (PAPPENHEIMER, 1993; WANG; LONDON, 2009; MAN et al., 2010). A TD atua em todos os tecidos, mas possui um especial tropismo para o miocárdio, sistema nervoso, rins e supra-renais (HADFIELD et al., 2000).

A TD é um polipeptídeo de 535 aminoácidos com peso molecular de aproximadamente 62 mil daltons; composta de dois fragmentos, A (TDA) e B (TDB), ligados por pontes dissulfeto. TDA é enzimaticamente ativo, enquanto TDB, embora seja tóxico, é indispensável para a penetração de TDA no citoplasma da célula (FUNKE et al., 1997; D'SILVA; LALA, 2000).

Além da capacidade de inibição da síntese protéica (CHANG et al., 1989a; MATTOS-GUARALDI; HIRATA JÚNIOR; DAMASCO, 2011), a TD possui atividade de clivagem internucleossomal de DNA (indicativo de indução de apoptose) atribuída à TDA (CHANG et al., 1989b; NAKAMURA; WISNIESKI, 1990), processo que precede a citólise e não parece ser decorrente da inibição da síntese protéica (MATTOS-GUARALDI; HIRATA JÚNIOR; DAMASCO et al., 2011). Uma única molécula de TDA, introduzida diretamente no citoplasma, é suficiente para matar a célula eucariótica (YMAIZUMI et al., 1978). A TD apresenta uma dose letal mínima menor que  $0,1\mu\text{gKg}^{-1}$ , ou seja, 50 a 100ng/kg de peso corporal, sendo extremamente potente (PAPPENHEIMER, 1993). Não existem diferenças na produção de TD entre as subespécies, porém só são toxinogênicos os micro-organismos que foram infectados por um bacteriófago temperado, específico, portador do gene *tox*, geralmente presente em corinebacteriófagos lisogênicos ( $\beta\text{3tox}^+$ ,  $\gamma\text{tox}^+$ ,  $\omega\text{tox}^+$ ). O micro-organismo é responsável pela regulação da expressão do gene *tox*. A transcrição do gene *tox* é negativamente regulada por íons de ferro e uma proteína repressora ligante de DNA (*DNA-binding protein*) e ferro dependente, denominada DtxR, que atua sobre a região promotora do gene da TD. Em ambiente com baixa concentração de ferro, o gene regulador *dtxR* é inibido, resultando no aumento de produção de TD (FUNKE et al., 1997; HADFIELD et al., 2000).

A TD geralmente é considerada o principal fator responsável não só pela destruição celular local, mas também pelo acúmulo de fibrina (MORTIMER; WHARTON, 1999) sugerindo que a presença de bacteriófagos que transportam o gene *tox* é essencial para a formação de pseudomembrana (SABBADINI et al., 2010).

**Tabela 1.** Levantamento bibliográfico de plantas medicinais que foram utilizadas para o estudo da atividade antibacteriana contra espécies de *Corynebacterium*

Micro-organismos	Espécies vegetais	Nome popular	Família	Parte usada	Inibição	Citação
<i>Corynebacterium bovis</i>	<sup>a</sup> Própolis	-	-	-	Sim	[1]
	<i>Persicaria senegalense</i>	Soják	Polygonaceae	Folha	Sim	[2]
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Anredera diffusa</i>	Bertalha	Basellaceae	Flor	Sim	[3]
	<i>Asclepias curassavica</i>	Erva-leiteira	Asclepidaceae	Flor	Não	[3]
	<i>Cassia tomentosa</i>	Retama	Fabaceae	Flor	Não	[3]
	<i>Cestrum auriculatum</i>	Coerana	Solanaceae	Flor	Não	[3]
	<i>Himatanthus sucuuba</i>	Janauba	Apocynaceae	Flor	Não	[3]
	<i>Krameria triandra</i>	Ratânia	Krameriaceae	Flor	Sim	[3]
	<i>Peperomia galioides</i>	Canela branca	Piperaceae	Flor	Sim	[3]
	<i>Sambucus peruviana</i>	Sabugueiro	Caprifoliaceae	Flor	Sim	[3]
	<i>Boswellia sacra</i>	Incenso	Bursaceae	Óleo e resina	Sim	[4]
	<i>Boswellia frereana</i>	Olíbano	Bursaceae	Resina	Sim	[4]
	<i>Polyalthia cerasoides</i>	Narela	Annonaceae	Casca	Sim	[5]
	<i>Saraca thaipingensis</i>	Saraca-amarela	Leguminosae	Flor, folha e galho	Sim	[6]
	<i>Piper betel</i>	Pimenta betel	Piperaceae	Folha	Sim	[7]; [8]
	<i>Terminalia catappa</i>	Amendoeira	Combretaceae	Folha e Fruto	Sim	[9]; [10]
	<i>Adathoda vasica</i>	Noz de malabar	Acanthaceae	Folha	Sim	[10]
	<i>Butea monosperma</i>	Chama-da-floresta	Fabaceae	Folha, casca e flor	Sim	[11]
	<i>Cythocline purpurea</i>	Brilho púrpura	Asteraceae	Óleo essencial	Sim	[12]
	<sup>b</sup> Curcumina	-	-	Pó e Pastilha	Sim	[13]
	<i>Zingiber officinale</i>	Gengibre	Zingiberaceae	Pó e Pastilha	Sim	[13]
<i>Terminalia catappa</i>	Amendoeira	Combretaceae	Folha e Fruto	Sim	[9]	
<i>Corynebacterium diphtheriticum</i>						
<i>Corynebacterium femi</i>	<i>Carya illinoensis</i>	Nogueira-pecã	Juglandaceae	Folha	Não	[14]
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	<i>Vernonia adoensis</i>	Musikavakadzi	Asteraceae	Folha	Sim	[15]
	<i>Mangifera indica</i>	Mumango	Anacardiaceae	Folha	Sim	[15]
	<i>Parinari curatellifolia</i>	Muhacha	Crysobalanaceae	Caulo	Sim	[15]
<i>Ziziphus mucronata</i>	Muchecheeni	Rhamnaceae	Caulo	Sim	[15]	

<i>Lippia javanica</i>	Zimbani	Verbenaceae	Raiz	Sim	[15]
<i>Abelmoschus esculentus</i>	Quiabo	Malvaceae	Fruto	Sim	[15]
<i>Aloe vera barbadensis</i>	Aloe vera	Aloaceae	Folha	Sim	[15]
<i>Catunaregam spinosa</i>	Romã da montanha	Rubiaceae	Folha, casca e raiz	Sim	[15]
<i>Rhynchosia insignis</i>	Mukoyo	Leguminosae	Folha	Sim	[15]
<i>Croton gratissimus</i>	Lavender croton	Euphorbiaceae	Folha	Sim	[15]
<i>Faurea saligna</i>	Mutsatsti	Proteaceae	Folha	Sim	[15]
<i>Garcinia huillensis</i>	Mutunduru	Clusiaceae	Folha	Sim	[15]
<i>Gymnosporia senegalensis</i>	Chishuzhu	Celastraceae	Folha	Sim	[15]
<i>Olax obtusifolia</i>	Gungwe	Olacaceae	Folha e caule	Sim	[15]
<i>Rhus longipes</i>	Mudzambuya	Anarcadiaceae	Folha e flor	Sim	[15]
<i>Solanum mauritianum</i>	Fumo bravo	Solanaceae	Folha	Sim	[15]
<i>Syzygium guineense</i>	Bambara	Myrtaceae	Folha	Sim	[15]
<i>Terminalia sericea</i>	Platina de prata	Combretaceae	Folha	Sim	[15]
<i>Xeroderris stuhlmannii</i>	Murumanyama	Leguminosae	Folha e casca	Sim	[15]
<b><i>Corynebacterium jeikeium</i></b>	Kakadu plum	Combretaceae	Folha e fruto	Sim	[16]
<b><i>Corynebacterium macginleyi</i></b>	Acácia	Fabaceae	Casca	Sim	[17]
<i>Acacia leucophloea</i>	Acalifa	Euphorbiaceae	Partes aéreas	Sim	[17]
<i>Acalypha indica</i>	Albízia	Fabaceae	Casca	Sim	[17]
<i>Albizia lebbek</i>	Netirapodu	Lythraceae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Ammania baccifera</i>	Pega-pinto	Nyctaginaceae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Boerhaavia diffusa</i>	Paineira-vermelha	Malvaceae	Casca	Sim	[17]
<i>Bombax ceiba</i>	Flor do fogo	Fabaceae	Casca	Sim	[17]
<i>Butea monosperma</i>	Bombadeira	Apocynaceae	Flor	Sim	[17]
<i>Calotropis procera</i>	Saco-de-padre	Sapindaceae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Cardiospermum halicacabum</i>	Fedegoso	Leguminosae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Cassia occidentalis</i>	Vinca	Apocynaceae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Catharanthus roseus</i>	Estramônio	Solanaceae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Datura stramonium</i>	Uva do diabo	Vitaceae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Cissus quadrangularis</i>	Vassoura	Cleomaceae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Cleome viscosa</i>	Palheteira	Fabaceae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Clitoria ternatea</i>	Amla	Phyllanthaceae	Fruto	Sim	[17]
<i>Emblica officinalis</i>	Bargá	Moraceae	Casca	Sim	[17]
<i>Ficus bengalensis</i>					

<i>Ficus religiosa</i>	Figueira	Moraceae	Casca	Sim	[17]
<i>Hibiscus rosa sinensis</i>	Hibisco	Malvaceae	Folha	Sim	[17]
<i>Hildegardia populifolia</i>	Paricá	Sterculiaceae	Casca do caule	Sim	[17]
<i>Hyptis suaveolens</i>	Cheirosa	Lamiaceae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Justicia adhatoda</i>	Acanto-arbóreo	Acanthaceae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Lantana camara</i>	Cambará	Verbenaceae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Lawsonia inermis</i>	Hena	Lythraceae	Folha	Sim	[17]
<i>Morus alba</i>	Amoreira-branca	Moraceae	Casca	Sim	[17]
<i>Solanum khasianum</i>	Erva-moura	Solanaceae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Ocimum sanctum</i>	Alfavaca	Lamiaceae	Folha e semente	Sim	[17]
<i>Phyllanthus amarus</i>	Quebra-pedra	Phyllanthaceae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Physalis minima</i>	Fisalis	Solanaceae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Piper betle</i>	Pimenta betel	Piperaceae	Folha	Sim	[17]
<i>Plumbago zeylanica</i>	Bela-emília	Plumbaginaceae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Pongamia pinnata</i>	Karanja	Fabaceae	Casca e semente	Sim	[17]
<i>Rosa indica</i>	Rosa	Rosaceae	Flor	Sim	[17]
<i>Sida acuta</i>	Sida	Malvaceae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Tamarindus indicus</i>	Tamarindo	Fabaceae	Casca	Sim	[17]
<i>Terminalia catappa</i>	Amendoeira	Combretaceae	Casca	Sim	[17]
<i>Terminalia arjuna</i>	Arjuna	Combretaceae	Casca	Sim	[17]
<i>Terminalia chebula</i>	Haritaki	Combretaceae	Casca e fruto	Sim	[17]
<i>Tridax procumbens</i>	Erva-de-touro	Asteraceae	Planta inteira	Sim	[17]
<i>Vernonia cinerea</i>	Vassourão	Asteraceae	Planta inteira	Sim	[17]
<b><i>Corynebacterium propinquum</i></b>	Arach	Polygonaceae	Casca e raiz	Sim	[18]
<b><i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i></b>	Bertalha	Basellaceae	Flor	Não	[3]
<i>Asclepias curassavica</i>	Oficial-de-sala	Asclepidaceae	Flor	Não	[3]
<i>Cassia tomentosa</i>	Retama	Fabaceae	Flor	Não	[3]
<i>Cestrum auriculatum</i>	Coerana	Solanaceae	Flor	Não	[3]
<i>Himatanthus suaveolens</i>	Janauba	Apocynaceae	Flor	Não	[3]
<i>Krameria triandra</i>	Ratânia	Krameriaceae	Flor	Sim	[3]
<i>Peperomia galtioides</i>	Canela branca	Piperaceae	Flor	Sim	[3]
<i>Sambucus peruviana</i> <sup>c</sup>	Sabugueiro	Caprifoliaceae	Flor	Não	[3]
	-	-	Planta inteira	Sim	[19]
<b><i>Corynebacterium pyogenes</i></b>	Mogno africano	Meliaceae	Folha e casca	Sim	[20]

<i>Cassia goratensis</i>	Cássia rosa	Leguminosae	Folha e casca	Sim	[20]
<i>Boswellia dalzielii</i>	Repelente	Burseraeae	Folha e casca	Sim	[20]
<i>Bauhinia thonningi</i>	Bauhinia	Leguminosae	Folha e casca	Sim	[20]
<i>Butyrospermum parkii</i>	Karité	Sapitaceae	Folha e casca	Sim	[20]
<i>Gutiera senegalensis</i>	Prota	Combretaceae	Folha e casca	Sim	[20]
<i>Anogeissus schimperi</i>	Bakli	Combretaceae	Folha e casca	Sim	[20]
<i>Anacardium occidentale</i>	Cajuzeiro	Anacardiaceae	Folha e casca	Sim	[20]
<i>Terminalia catappa</i>	Amendoeira	Combretaceae	Folha	Sim	[21]
<b><i>Corynebacterium renale</i></b>	<i>Calligonum comosum</i>	Polygonaceae	Casca e raiz	Sim	[18]
<b><i>Corynebacterium rubrum</i></b>	<i>Terminalia catappa</i>	Combretaceae	Folha	Sim	[22]
	<i>Avicennia marina</i>	Avicenniaceae	Folha, caule e raiz	Sim	[23]
	<i>Aegle marmelos</i>	Rutaceae	Folha, fruto e semente	Não	[24]
	<i>Annona squamosa</i>	Annonaceae	Folha e semente	Sim	[24]
	<i>Citrus limon</i>	Rutaceae	Folha e semente	Sim	[24]
	<i>Azadiracta indica</i>	Meliaceae	Fruto	Não	[24]
	<i>Piper betle</i>	Piperaceae	Folha	Sim	[24]
	<i>Mangifera indica</i>	Anacardiaceae	Fruto	Sim	[25]
<b><i>Corynebacterium urealyticum</i></b>	<sup>a</sup> <i>havan sámagri</i>	-	-	Sim	[26]
<b><i>Corynebacterium xerosis</i></b>	<i>Liquidambar orientalis</i>	Hamamelidaceae	Casca	Sim	[27]
<b><i>Corynebacterium spp.</i></b>	<i>Syzygium cumini</i>	Myrtaceae	Folha	Sim	[28]
	<i>Ageratum conyzoides</i>	Asteraceae	Folha	Sim	[29]
	<i>Amburana cearensis</i>	Fabaceae	Casca	Sim	[30]
	<i>Selaginella convoluta</i>	Selaginellaceae	Folha	Sim	[30]
	<i>Hymenaea courbaril</i>	Fabaceae	Casca	Sim	[30]
	<i>Neoglaziovia variegata</i>	Bromeliaceae	Folha	Sim	[30]
	<i>Bromelia laciniosa</i>	Bromeliaceae	Folha	Sim	[30]
	<i>Encholirium spectabile</i>	Bromeliaceae	Folha	Sim	[30]
	<i>Calligonum comosum</i>	Polygonaceae	Casca e raiz	Sim	[18]
	<i>Caesalpinia ferrea</i>	Fabaceae	Fruto	Sim	[31]

<sup>a</sup> Própolis de *Apis mellifera*; <sup>b</sup> Curcumina é um polifenol derivado da planta *Curcuma longa*. <sup>c</sup> Antraquinona derivada de *Cassia italica*; <sup>d</sup> Material utilizado para oblação na Índia, mistura de 54 espécies vegetais. [1] Langoni et al. (1996); [2] Abaineh e Sintayehu (2001); [3] Catherine Neto et al. (2002); [4] Hasson et al. (2011); [5] Treeratanapiboon et al. (2011); [6] Prachayasittikul et al. (2012); [7] Nandam, Prasad e Kandru (2013); [8] Swapna, Ammani e Saripalli (2013); [9] Naz et al. (2007); [10] Unnikrishnan et al. (2014); [11] Gupta e Chandra (2016); [12] Dinde, Lokhande e Mujawar (2017); [13] Achhra e Lalla (2015); [14] Caxambú et al. (2016); [15] Chimponda

e Mukanganyama (2010); [16] McManus et al. (2017); [17] Koday et al. (2010); [18] Degheidy, Al-Malki e Al-Harbi (2017); [19] Kazmi et al. (1994); [20] Kudi et al. (1999); [21] Obafemi et al. (2006); [22] Chanda et al. (2013); [23] Moteriya, Dalsaniya e Chanda (2015); [24] Padali, Trivedi e Chanda (2016); [25] Rakholiya et al. (2013); [26] Nautiyal, Chauhan e Nene (2007); [27] Sagdiç et al. (2005); [28] Loguercio et al. (2005); [29] Singh et al. (2016); [30] Sá et al. (2011); [31] Tomaz et al. (2013).  
Fonte: Autores (2018).

Os sinais e sintomas iniciais da difteria não são característicos da doença, como mal-estar geral, febre, dor de garganta e perda do apetite (MARTINEZ-MARTINEZ et al., 1995; GUBLER et al., 1998). A partir do crescimento da bactéria na faringe, forma mais comum da doença e, com a evolução do quadro, há a formação de uma pseudomembrana (HOLMES, 2000; HANSMEIER et al., 2006), que se dá devido a combinação dos efeitos do crescimento bacteriano, produção de toxina, necrose tecidual e resposta imune do hospedeiro (SALYERS; WHITT, 1994).

A pseudomembrana apresenta coloração acinzentada principalmente nas tonsilas, oro e nasofaringe. Nos casos de maior gravidade, a pseudomembrana pode se estender por todo o trato respiratório inferior (KADIROVA; KARTOGLU; STREBEL, 2000). Estas placas pseudomembranosas são geralmente constituídas de eritrócitos, leucócitos, células epiteliais necróticas, bactérias e fibrina, sendo um sinal patognomônico da doença (SALYERS; WHITT, 1994; BEAVIS; WEYMOUTH, 1996). A presença de pseudomembrana tem sido observada em uma pequena proporção (32,5%) de casos de infecção causada por amostras toxinogênicas de bacilo diftérico, principalmente nos países em que são encontrados muitos indivíduos parcialmente imunizados. Sem a presença de pseudomembrana na garganta, o paciente normalmente procura assistência médica devido ao estado de prostração, fraqueza e dor para deglutir os alimentos (KADIROVA; KARTOGLU; STREBEL, 2000). Segundo Phalkey et al. (2013), em torno de 64% dos casos confirmados de difteria na Índia apresentaram pseudomembrana bem definida. E casos de difteria ocorridos no Brasil no estado do Maranhão em 2010, 59% dos pacientes apresentaram pseudomembrana (SANTOS et al., 2015).

A imunidade adquirida contra a difteria é obtida através da vacinação com o toxoide diftérico presente na vacina DTP (vacina tríplice bacteriana contra tétano, difteria e coqueluche) (BONNET; BEGG, 1999; GALASKA, 2000). Nos dias atuais, a vacinação configura como uma realidade que traz bons prognósticos para a população, e esta no calendário regular de imunização de países (BITRAGUNTA et al., 2010).

A significativa redução na incidência da doença nos últimos anos em algumas localidades se justifica pelo nível elevado de vacinação da população e/ou pela melhoria das condições habitacionais e de higiene (MATHEIL et al., 1997; MELKER et al., 1999; MARLOVITS et al., 2000).

Após três décadas de controle, a doença ressurgiu de maneira epidêmica no Leste Europeu, principalmente na Rússia e na Ucrânia, com aproximadamente 157.000 casos e 5.000 óbitos reportados no período de 1990 a 1999 (GALAZKA; ROBERTSON, 1995; REY

et al., 1996; GALASKA, 2000). Essa epidemia foi inicialmente caracterizada por uma mudança na faixa etária acometida, que passou a ser constituída por indivíduos acima de 15 anos de idade (REY et al., 1996; DITTMAN et al., 2000). Um número elevado (30%) de casos graves ou fatais também foi observado em indivíduos vacinados (DITTMAN et al., 2000).

Outras regiões também vivenciaram surtos epidêmicos na década de 90, como China (6.000 casos), Tajakistão (1.100 casos), Índia (56.000 casos) e o Equador (centenas de casos) (GALAZKA; ROBERTSON, 1995; SINGH et al., 1999; DITTMAN et al., 2000; GALASKA, 2000). Segundo o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC, 1997), os 45 casos de difteria em indivíduos não vacinados, notificados nos Estados Unidos entre 1980 e 1995, relacionavam-se a importação de *C. diphtheriae* de outros países.

Sharma et al. (2007) relataram a ocorrência de casos de difteria em Delhi, Índia, e arredores, entre 1998 e 2004, principalmente em crianças não vacinadas. Óbitos por difteria, na Índia, têm sido documentados em indivíduos previamente imunizados (DRAVID; JOSHI, 2008; PHALKEY et al., 2013). Entre os anos 2010 e 2011, ocorreram 6.608 casos de difteria clássica na Índia (onde a cobertura vacinal é inferior a 80%), 1.238 na Indonésia, 240 no Nepal, 238 no Iran e 194 no Sudão, além de centenas de casos em outros países (MATTOS-GUARALDI et al., 2011). Recentemente, nos anos de 2015 e 2016, mais 10 casos foram confirmados na Índia no Distrito de Dibrugarh, sendo que os pacientes encontravam-se não imunizados ou parcialmente imunizados (DAS et al., 2016).

No Brasil, a difteria ainda pode ocorrer em crianças com esquema de vacinação com DTP incompleto e na idade pré-escolar (BRASIL, 1998). Precárias condições de higiene e saneamento, assim como imunização incompleta da população ocasionaram, na década de 80, surtos isolados em algumas regiões do Brasil, como Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Pernambuco, Amazonas e Santa Catarina (MATTOS-GUARALDI; FORMIGA, 1991; FORMIGA; MATTOS-GUARALDI, 1993). Entre 1969 e 1985, a difteria atingiu principalmente crianças com idade igual ou inferior a 10 anos no Rio de Janeiro (FERREIRA, 1990). Nos últimos 15 anos, ocorreram casos de difteria em quase todos os estados do território brasileiro, incluindo o Maranhão (MATTOS-GUARALDI et al., 2001; BRASIL, 2007). Neste estado, em 2010, houve um surto epidêmico de difteria por *C. diphtheriae*, o qual atingiu três municípios (Jatobá, Colinas e São Domingos). Foram confirmados 27 casos, a maioria em crianças e adolescentes de até 15 anos, e três óbitos foram relatados, sendo que dois indivíduos tinham histórico de vacinação completa. A subespécie isolada nesse surto foi *intermedius* (SANTOS et al., 2015).

Embora a difteria esteja entre as doenças mais bem estudadas, a preocupação dos órgãos de saúde pública com a possibilidade de uma pandemia é constante, tanto em países em desenvolvimento quanto em países desenvolvidos. Tal fato se deve a permanência do agente etiológico circulando na população (GOLAZ et al., 2000; DEWINTER et al., 2005). DeWinter et al. (2005) mencionaram o Canadá como um potencial reservatório de amostras de bacilo diftérico produtoras de TD. Estes casos enfatizam, mais uma vez, a necessidade de novas estratégias de vacinação mais eficazes, direcionadas a indivíduos de todas as idades e de diferentes grupos étnicos, uma vez que a introdução de amostras toxinogênicas em uma população suscetível pode resultar em surto de difteria (GOLAZ et al., 2000).

A difteria cutânea pode ocorrer a partir de uma lesão de pele, onde o bacilo se multiplica (CLARRIDGE; SPRIGEL, 1995). Segundo MacGregor (1990), as infecções cutâneas causadas pelo *C. diphtheriae* são mais contagiosas que as do trato respiratório. Em regiões endêmicas, as infecções de pele servem como reservatório do bacilo diftérico, uma vez que o patógeno pode ser encontrado em diversos tipos de lesões cutâneas, incluindo picadas de insetos (GALASKA, 2000). Além disso, é interessante lembrar que o bacilo diftérico pode ser encontrado em sítios pouco comuns, como conjuntiva, esperma, ouvido e vagina (FORMIGA; MATTOS-GUARALDI, 1993).

A capacidade de produzir doenças invasivas adiciona um novo aspecto atípico ao processo infeccioso causado por *C. diphtheriae*. O bacilo diftérico tem sido relacionado com quadros de sepse, endocardite, osteomielite, artrite e pneumonia (MATTOS-GUARALDI; FORMIGA, 1998; MATTOS-GUARALDI et al., 2001; DZUPOVA et al., 2005; HIRATA JÚNIOR et al., 2008; HONMA et al., 2009; STAVRACAKIS-PEIXOTO et al., 2011). A presença de fatores de risco não é necessária para o desenvolvimento do quadro (MATTOS-GUARALDI; FORMIGA, 1998).

Cepas de *C. diphtheriae* isoladas de quadros de difteria e de infecções invasivas no continente Europeu demonstraram a circulação de amostras atoxinogênicas e toxinogênicas exibindo tolerância à penicilina, eritromicina e outros antibióticos (lincomicina e rifampicina) (PATEY et al., 1995). A investigação da sensibilidade aos antimicrobianos de amostras de bacilo diftérico isoladas no Brasil evidenciou resistência bacteriana ao antibiótico penicilina (PEREIRA, 2001). Além disso, já foi observado resistência a neomicina para corineformes (ISHII; FREITAS; ARIAS, 2011). Ramos (2013) identificou estirpes de corineformes multirresistentes para os gêneros *Arthrobacter*, *Brevibacterium* e *Microbacterium* isoladas de sítios intravenosos, os principais antibióticos com resistência para esses micro-organismos foram penicilina, tetraciclina, gentamicina e clindamicina.

## 2.6 *Corynebacterium ulcerans*

A espécie *Corynebacterium ulcerans* foi descrita por Gilbert e Stewart em 1926 como não pertencente aos biotipos de *C. diphtheriae* após a caracterização de 31 amostras obtidas a partir de 1920. Os micro-organismos gelatinase-positivos e nitrato-positivos incluídos nesta espécie foram capazes de causar lesões dermonecroticas em decorrência da produção de toxina solúvel diferente da TD (GILBERT; STEWART, 1926).

A análise filogenética de sequências do gene 16S rRNA permitiu identificar *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* e *C. pseudotuberculosis* como espécies distintas potencialmente produtoras de TD. *C. ulcerans* e *C. pseudotuberculosis* são micro-organismos capazes de hidrolisar a ureia, o que os diferencia presuntivamente da espécie tipo do gênero, o *C. diphtheriae* (RIEGEL et al., 1995).

Além dos quadros de difteria clássica (respiratória e cutânea), *C. ulcerans* tem sido relacionado com quadros pulmonares diversos (SIEGEL; HAILE, 1985; DESSAU et al., 1995; HOMMEZ et al., 1999; HATANAKA et al., 2003; NUREKI et al., 2007; MATTOS-GUARALDI et al., 2008), sinusite necrotizante (WELLINGHAUSEN et al., 2002), além de outros (SING et al., 2003).

Inicialmente, os casos de faringite diftérica causada por *C. ulcerans* em humanos estavam geralmente relacionados a áreas rurais. *C. ulcerans* tem sido isolado de gado bovino com quadros clínicos de mastite e de produtos lácteos, sugerindo que o consumo de leite e derivados poderia estar envolvido na transmissão do micro-organismo. A descrição de um caso de infecção em indivíduo que relatou o hábito de consumir leite não fervido/pasteurizado e de um fazendeiro portador nasal assintomático do micro-organismo revelou o potencial do *C. ulcerans* de circular entre hospedeiros humanos e animais, e de causar difteria de natureza zoonótica (HIGGS et al., 1967; BOSTOCK et al., 1984; HART, 1984; BARRETT, 1986; HOMMEZ et al., 1999; DIAS et al., 2010).

Relatos de casos clínicos vêm apontando outros animais domésticos, além dos bovinos e caprinos, como sendo capazes de transmitir o micro-organismo a hospedeiros humanos, inclusive cães e gatos. No Reino Unido, foram analisadas 81 amostras toxigenicas de *C. ulcerans* de origens diversas. No período de 1986 a 2003, foram isoladas 50 amostras de humanos e sete amostras oriundas de gatos domésticos que apresentavam corrimento nasal bilateral. Os micro-organismos isolados dos gatos eram pertencentes aos mesmos ribotipos de *C. ulcerans* isolados de humanos infectados, sugerindo a possibilidade de gatos serem capazes de atuar como reservatório de *C. ulcerans* (TAYLOR et al., 2002; DEZOYSA et al., 2005; DIAS et al., 2011).

Houve casos relatados de pacientes humanos que não apresentavam fatores de risco associados às infecções por *C. ulcerans*, tais como consumo de leite cru ou ter contato com animais de fazenda, aumentando a transmissão de *C. ulcerans* entre pequenos animais e entre seres humanos (DEWINTER et al., 2005; DEZOYZA et al., 2005; LARTIGUE et al., 2005; AARON et al., 2006; MATTOS-GUARALDI et al., 2008; SETO et al., 2008; TIWARI et al., 2008; KATSUKAWA et al., 2009).

Nos últimos anos a maior parte dos casos de difteria notificados na Europa (BONMARIN et al., 2009; HOGG et al., 2009; SCHUHEGGER et al., 2009; LEGGEETT et al., 2010), Japão (KATSUKAWA et al., 2009) e EUA (HALL et al., 2010) tem *C. ulcerans* como agente, apresentando como reservatório inicial animais sejam eles domésticos ou não.

Em 2005 e 2006, dois casos de difteria causados por *C. ulcerans* foram descritos na França (LARTIGUE et al., 2005; AARON et al., 2006). Em ambos os casos, a principal característica foi que a fonte de infecção era o cão de estimação, enfatizando a natureza zoonótica de transmissão do micro-organismo (AARON et al., 2006). Foi realizada a pesquisa de portadores/contactantes, não sendo isolado o micro-organismo. Mesmo assim, os contactantes foram tratados com administração de amoxicilina ou eritromicina, este último no caso de alergia ao primeiro antibiótico (LARTIGUE et al., 2005). A transmissão do micro-organismo homem a homem, no entanto, ainda não foi bem documentada (BOSTOCK et al., 1984; HART, 1984; BARRET, 1986; MATTOS-GUARALDI et al., 2008; TIWARI et al., 2008).

O crescente número de casos de infecções por *C. ulcerans* em cães e gatos ocorridos nos últimos cinco anos ressalta a importância de se ampliar o conhecimento relativo aos aspectos epidemiológicos desta zoonose emergente (DEWINTER et al., 2005; DEZOYZA et al., 2005; LARTIGUE et al., 2005; AARON et al., 2006; SETO et al., 2008; KATSUKAWA et al., 2009; SYKES et al., 2010).

Nos países em desenvolvimento o número de casos reportados é bastante reduzido, na América Latina temos casos descritos em humanos apenas no Brasil (MATTOS-GUARALDI et al., 2008) e em animais na Argentina (MORRIS et al., 2005). No Brasil no estado de Pernambuco em 2015 foram confirmados 4 casos de difteria, com registro de um óbito, o paciente era do gênero masculino com faixa etária de 14 anos, a difteria foi ocasionada por *C. ulcerans* (G1-PE, 2015).

## 2.7 *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*

No grupo de corineformes está a espécie *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, que não produz ácidos a partir dos carboidratos, sendo capaz de reduzir nitrato, hidrolizar ureia e, em algumas oportunidades, a tirosina e o hipurato. Micro-organismos pertencentes a essa espécie formam colônias com 1 a 2mm de diâmetro, esbranquiçadas, levemente secas, não hemolíticas e não lipofílicas em culturas de 72 horas (FUNKE et al., 1997; FUNKE; BERNARD, 2007; SOUZA et al., 2015).

Embora *C. pseudodiphtheriticum* seja caracterizado como um integrante da microbiota da nasofaringe e orofaringe de humanos, tem sido relacionado com quadros de infecções do trato respiratório em pacientes imunocompetentes e principalmente imunocomprometidos (MANZELLA et al., 1995; CHINER et al., 1999; CAMELLO et al., 2009; SOUZA et al., 2012; INDUMATHI; SHIKHA; SURYAPRAKASH, 2014).

A patogenicidade dessa bactéria não está restrita apenas a infecção do trato respiratório, tais como pneumonia, faringite exsudativa, traqueíte, bronquite e fibrose cística. Outras infecções de origem não respiratória também são causadas por este organismo, incluindo infecções cutâneas e geniturinárias, bacteremia, endocardite, artrite séptica, osteíte, ceratite, entre outras (GUTIÉRREZ-RODERO, 1999; KEMP et al., 2005; CANTARELLI et al., 2008; BITTAR et al., 2010; GOMPELMANN et al., 2011; ERTURAN; HOLME; IYER, 2012; SOUZA et al., 2012; SOUZA et al., 2015).

Segundo um estudo realizado por Camello et al. (2003), foi observado que *C. pseudodiphtheriticum* foi a espécie de corinebactéria mais predominante em ambiente hospitalar a partir de diferentes amostras clínicas: urina, feridas cirúrgicas e/ou outros tipos de lesões cutâneas e abscessos, sítios intravenosos (cateteres e sangue), trato respiratório inferior, líquido peritoneal, etc. O micro-organismo também foi isolado a partir de secreção do trato respiratório inferior e de líquido peritoneal de pacientes portadores do vírus HIV. Adicionalmente, amostras de *C. pseudodiphtheriticum* isoladas a partir de urina e feridas cirúrgicas foram multirresistentes aos antimicrobianos.

Recentemente, um estudo de caso relatou que uma criança de 6 anos de idade, com esquema completo de vacinação para difteria, presença de faringite membranosa e características de toxemia, foi diagnosticada clinicamente com difteria. Uma vez que o paciente apresentou os sinais clássicos dessa doença, foi administrado soro antitoxina diftérica antes do resultado do diagnóstico laboratorial, entretanto, o agente etiológico foi identificado como *C. pseudodiphtheriticum*. Testes de toxigenicidade revelaram que a amostra não produzia a toxina diftérica (INDUMATHI; SHIKHA; SURYAPRAKASH, 2014). De acordo

com estes autores, somente 3 casos de infecções do trato respiratório superior semelhantes a difteria e relacionadas ao *C. pseudodiphtheriticum* foram relatados.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Realizar análise química e o estudo das atividades antioxidante e tóxica de plantas medicinais do cerrado maranhense, assim como as atividades antibacteriana e antibiofilme contra *Corynebacterium* spp.

#### 3.2 Objetivos específicos

Verificar o perfil químico das espécies vegetais estudadas;

Analisar a toxicidade das espécies vegetais *in vitro* e *in vivo*;

Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* das espécies vegetais;

Determinar as concentrações inibitórias e bactericidas mínimas das plantas medicinais contra *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* e *C. pseudodiphtheriticum*;

Pesquisar a eficiência da combinação das espécies vegetais e drogas antimicrobianas convencionais contra os micro-organismos;

Avaliar a influência das plantas medicinais na formação e erradicação de biofilme por *Corynebacterium* spp.

#### 4 JUSTIFICATIVA

Infecções causadas por espécies de *Corynebacterium* spp ainda representam um desafio médico global, sobretudo em relação à espécie *C. diphtheriae*, devido ao aumento significativo do percentual de indivíduos parcialmente imunes à TD. Com isso, quadros atípicos de difteria vêm complicando o curso clínico e terapêutico, o que alerta para outros fatores de virulência passíveis de serem expressos por cepas de *C. diphtheriae*, além da TD. Além disso, têm aumentado os relatos de infecções humanas ocasionadas por bactérias corineformes de origem ambiental ou presentes na microbiota humana e de alguns animais, como, por exemplo, quadros de difteria clássica (respiratória e cutânea) causados pelo *C. ulcerans* e bronquite, faringite exsudativa e outras infecções não respiratórias como, endocardite e linfadenite associados ao *C. pseudodiphtheriticum*.

A capacidade de formação de biofilme por micro-organismos patogênicos em superfícies inertes ou em tecidos do hospedeiro está envolvida na patogênese de diversas infecções e vem sendo considerada como importante fator de virulência. Nesse sentido, já foi relatado que corinebactérias podem atuar como patógenos ou copatógenos em populações de risco, como pacientes imunodeprimidos que fazem uso de dispositivos médicos de longa duração. Autores já descreveram a capacidade de corinebactérias aderirem a superfícies bióticas e/ou abióticas e formar biofilmes.

Fatores ambientais são de extrema importância na expressão de propriedades de virulência em diversos patógenos bacterianos. Os antimicrobianos de escolha para o tratamento de corinebacterioses ainda são a penicilina e a eritromicina. Além de já ter sido relatada resistência a estes antimicrobianos, por razões diversas, estes agentes podem não atingir a concentração adequada nos tecidos ou no ambiente intracelular e passam a atuar como agentes indutores de alterações significativas da ultraestrutura bacteriana, influenciando na manutenção do micro-organismo nos tecidos do hospedeiro.

Apesar da grande diversidade de antimicrobianos que agem sobre diversos micro-organismos patogênicos, incluindo as corinebactérias, estudos buscam por um antimicrobiano ideal, ou seja, aquele que apresenta maior espectro de ação, menor toxicidade, menor custo e menor índice de resistência bacteriana.

Neste sentido, a investigação das características dos produtos naturais, assim como o papel das plantas como agentes antibacterianos tem aumentado potencialmente nos últimos anos. A realização de testes de citotoxicidade se faz necessária, visto que é importante conhecer se os extratos apresentam atividade tóxica contra células eucarióticas.

## **5 MATERIAL E MÉTODOS**

### **5.1 Coleta e identificação do material vegetal**

Foram coletadas 8 espécies vegetais no Parque Nacional da Chapada das Mesas (Autorização pelo sistema SisBio do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade nº 28007) na região do município de Estreito-MA, em julho de 2014 no início da manhã. Foram preparadas exsiccatas para a identificação e registro pelo Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

### **5.2 Preparação dos extratos brutos hidroalcoólicos e determinação do peso seco**

As folhas das plantas medicinais foram secas a temperatura ambiente e pulverizadas com moinho de facas, obtendo-se um pó grosso (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2000). Para a preparação dos Extratos Brutos hidroalcoólicos (EBH), 100g aproximadamente, dos pós das folhas foram submetidos a processo extrativo por maceração com álcool a 70%, utilizando o hidromódulo de 1:10, durante 7 dias, com agitação diária e sob abrigo de luz. Em seguida, os pós foram filtrados e concentrados em evaporador rotativo (FIRMO et al., 2014). O peso seco dos EBH foi determinado em recipientes previamente pesados, que receberam volume de 1mL do EBH, e foram colocados sobre chapa aquecida para evaporação do solvente. Foram feitas pesagens a cada meia hora, sendo que após três pesagens com valores iguais foi calculado o peso seco do EBH (BETONI et al., 2006).

### **5.3 Estudo químico das espécies vegetais**

#### **5.3.1 Determinação de minerais**

Pesou-se 1g do pó das folhas, acrescentou-se 3,0mL de ácido nítrico e colocou-se no sistema de decomposição pressurizado com aquecimento convencional Berghof (bomba de digestão). Em seguida, colocou-se a amostra na estufa à temperatura de 180°C por um período de 1 hora e 30 minutos para que ocorresse a digestão. Após esse período, a amostra foi transferida para um balão volumétrico, completando-se o volume de 100mL com água deionizada. A análise das amostras mineralizadas foi para os seguintes minerais; cálcio (Ca), cobre (Cu), ferro (Fe), magnésio (Mg), manganês (Mn), sódio (Na) e zinco (Zn). Os metais com presença evidenciada na amostra foram determinados quantitativamente empregando-se espectrofotometria de absorção atômica (EAA) (ALMEIDA et al., 2002; FREITAS; SANTOS; MOREIRA, 2013). O teste foi realizado uma vez em triplicata.

### 5.3.2 Caracterização fitoquímica

Os EBH foram submetidos a testes fitoquímicos de acordo com a metodologia de Matos (2009). Os testes realizados avaliaram fenóis e taninos (reação com cloreto férrico), flavonoides (teste de variação de pH), esteroides e triterpenos (teste de Liebermann-Burchard), saponinas (teste de espuma), cumarinas (teste com luz ultravioleta) e alcaloides (identificação com Dragendorff, Hager e Mayer). Todos os testes foram realizados em uma vez em triplicata.

#### 5.3.2.1 Teste para detecção de fenóis e taninos

Em um tubo de ensaio, colocou-se 4mL do EBH e adicionou-se 3 gotas de solução alcoólica de cloreto férrico. Em seguida, agitou-se e observou variação de cor ou formação de precipitado. A mudança de coloração sem precipitação indica positividade para fenóis; desenvolvimento de precipitado escuro de tonalidade azul indica presença de taninos hidrolisáveis e formação de precipitado escuro de tonalidade verde, aponta a presença de taninos condensados.

#### 5.3.2.2 Teste para detecção de flavonoides

A determinação da presença de flavonoides se deu utilizando 3 tubos de ensaio, com 4mL de EBH em cada, sendo que, um destes foi acidificado com HCl 1M e o pH ajustado para 3 e os outros dois tubos foram alcalinizados com NaOH 1M ajustado o pH para 8,5 e 11, respectivamente. O surgimento de cores diversas indicou a presença das substâncias de acordo com o Quadro 1.

**Quadro 1.** Determinação de flavonoides por mudança de coloração em meio acidificado e alcalinizados

Substâncias	pH 3	pH 8,5	pH 11
Antocianidinas, antocianidas	Vermelho	Lilás	Azul-púrpura
Flavonas, xantonas, flavonois	-	-	Amarela
Chalconas e auronas	Vermelho	-	Vermelho-púrpura
Flavononois	-	-	Vermelho-laranja

-, ausência.

Fonte: Matos (2009)

Em seguida, os tubos com pH 3 e pH 11 foram aquecidos cuidadosamente, com auxílio de uma lâmpada de álcool durante 3 minutos e observou modificação de cor (Quadro 2).

**Quadro 2.** Determinação de flavonoides por mudança de coloração após aquecimento em meio acidificado e alcalinizado

<b>Substâncias</b>	<b>pH 3</b>	<b>pH 11</b>
Leucoantocianidinas	Vermelho	-
Catequinas	Pardo-amarela	-
Flavononas	-	Vermelho-laranja

-, ausência.

Fonte: Matos (2009)

#### 5.3.2.3 *Teste para detecção de triterpenos e esteroides*

O extrato seco foi ressuspendido com 10mL de clorofórmio; após, filtrou-se a solução clorofórmica, com algodão coberto com alguns decigramas de sulfato de sódio anidro, para um tubo de ensaio. Adicionou 1mL de anidrido acético, agitou suavemente, e adicionou-se 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Em seguida agitou e observou-se o desenvolvimento de cor. Coloração azul seguida de verde permanente demonstrou positividade para esteroides livres e coloração parda até vermelha indicou presença de triterpenos livres.

#### 5.3.2.4 *Teste para detecção de saponinas*

No extrato seco acrescentou 10mL de clorofórmio, após, filtrou a solução clorofórmica, com algodão coberto com sulfato de sódio anidro, o resíduo seco insolúvel em clorofórmio foi dissolvido em 10mL de água destilada e filtrou a solução, em seguida tampou e agitou fortemente o tubo com a solução por 3 minutos, a formação de espuma persistente e abundante (colarinho) indicou a presença de saponinas.

#### 5.3.2.5 *Teste para detecção de alcaloides*

Dissolveu o EBH com 20mL de ácido sulfúrico 0,1 M, aqueceu por 2 minutos. Filtrou, resfriou e separou o filtrado em 3 tubos de ensaio, em seguida gotejou os reativos específicos de Mayer, Hager e Dragendorff e observou a formação de precipitado.

#### 5.3.2.6 *Teste para detecção de cumarinas*

Em um papel de filtro não fluorescente e com auxílio de um tubo capilar, fez duas fortes machas de aproximadamente 1,5cm de diâmetro e aplicou sobre uma das manchas uma

gota de solução alcoólica de KOH 1M; em seguida cobriu parcialmente as manchas com um cartão opaco não fluorescente e expôs o conjunto à ação da luz ultravioleta por 3 minutos. Descobriu a parte encoberta ainda sob a luz ultravioleta e observou modificação na fluorescência da mancha que foi alcalinizada. O desenvolvimento de fluorescência esverdeada progressiva, forte e visível na metade não encoberta da mancha alcalinizada indicou a presença de cumarinas.

### 5.3.3 Caracterização química por cromatografia líquida de alta eficiência

Para obtenção do perfil químico das amostras, utilizou-se cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os extratos secos foram diluídos a 10mg/mL em solvente HPLC. Posteriormente, alíquotas de 5µL foram injetadas diretamente na CLAE-UV/Vis com detecção a 254nm. Utilizou-se um sistema CLAE modelo Shimadzu (Shimadzu Corp), consistindo de um módulo de distribuição de solvente com uma bomba de pistão de duplo, detector UV-VIS (SPA-10A). A coluna utilizada foi Luna 5µm C18 100A (150µm x 4,6µm). Os solventes de eluição utilizados foram A (ácido acético + 2% em água) e B (metanol). As amostras foram eluídas de acordo com o seguinte gradiente: 5% a 100% de B em 50 min. O fluxo foi de 1mL/min. A temperatura da coluna foi de 20 °C e o volume de injeção da amostra foi de 5µL. Os dados foram coletados e processados utilizando o software LC Solution (Shimadzu) (ARAÚJO et al., 2017). Os padrões de catequina, naringenina, rutina, quercetina e apigenina foram diluídos e analisados nas mesmas condições.

### 5.3.4 Determinação dos teores de polifenóis totais e flavonoides totais

As concentrações de polifenóis totais foram determinadas utilizando reagente de Folin-Ciocalteu (Merck) e carbonato de sódio a 20%, por espectrofotometria ultravioleta visível a 760nm (Lambda 35, Perkin Elmer), após 2 horas de reação. Os resultados foram expressos como equivalentes de ácido gálico (Sigma) (mg/g), calculados a partir de uma curva padrão de ácido gálico (1 a 30µg/mL), usada para obtenção da equação da reta. As concentrações de flavonoides totais foram determinadas utilizando solução metanólica de cloreto de alumínio (AlCl<sub>3</sub>) a 5%, por espectrofotometria ultravioleta visível a 425nm. Quercetina foi utilizada como padrão e os resultados expressos em mg/g de quercetina (Merck) (DUTRA et al., 2008; FIRMO et al., 2015). A determinação dos teores de flavonoides e polifenóis totais dos extratos foi realizada uma vez em triplicata e os teores foram expressos como média ± desvio padrão.

## 5.4 Avaliação da atividade antioxidante

### 5.4.1 Determinação da atividade antioxidante pelo sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)

O método utilizado do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) foi descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Preparou-se solução estoque dos EBH e em seguida foram obtidas soluções metanólicas em diferentes concentrações (10, 50 e 100µg/mL) das quais se retirou alíquotas de 0,5mL e adicionou-se 3,5mL da solução de DPPH (40µg/mL). Após 30 minutos de reação, ao abrigo de luz em temperatura ambiente, as absorvâncias foram lidas em comprimento de onda de 517nm em espectrofotômetro ultravioleta visível. O metanol foi utilizado como branco e a solução de DPPH como controle. A percentagem da atividade sequestradora (%AS) foi calculada pela equação:  $\%AS = 100 \times (A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}) / A_{\text{controle}}$ , onde  $A_{\text{controle}}$  é a absorvância do controle (solução com radical DPPH e metanol) e  $A_{\text{amostra}}$  é a absorvância do radical na presença dos EBH. Todos os experimentos foram realizados duas vezes em triplicata.

### 5.4.2 Atividade antioxidante pela redução do complexo fosfomolibdênio

Esse método consiste na formação do complexo de fosfomolibdênio em meio aquoso, com coloração amarela, quando oxidado, e verde à medida que é reduzido por substâncias antioxidantes. A coloração verde é mais intensa quanto maior for a propriedade antioxidante da amostra. O complexo fosfomolibdênio é formado pela reação da solução de fosfato de sódio (28mL; 0,1mol/L) com solução de molibdato de amônio (12mL; 0,03mol/L) e solução de ácido sulfúrico (20mL; 3mol/L), em meio aquoso, sendo o volume final, ajustado com água destilada para 100mL. Soluções dos EBH foram preparadas na concentração de 200µg/mL e retirou-se uma alíquota de 0,4mL, que foi transferida para um tubo de ensaio e adicionaram-se 4mL do complexo de fosfomolibdênio. Um branco foi constituído a partir de 0,4mL de água destilada e 4mL do complexo de fosfomolibdênio. A solução de ácido ascórbico na concentração de 200µg/mL foi utilizada como padrão. Os tubos foram incubados por 90 min a 95°C e depois resfriados até temperatura ambiente. Após isso, procederam-se as leituras das absorvâncias em 695nm. A ação antioxidante das amostras foi expressa em relação ao ácido ascórbico, considerando que o valor de sua absorvância corresponde a 100% de ação antioxidante. A percentagem da atividade antioxidante (%AA) foi calculada pela equação:  $\%AA = (A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}) / (A_{\text{padrão}} - A_{\text{branco}}) \times 100$ , onde  $A_{\text{amostra}}$  é a absorvância de cada amostra,  $A_{\text{branco}}$  é a absorvância do branco e  $A_{\text{padrão}}$  é a absorvância do padrão (ácido

ascórbico) (PRIETO; PINEDA; AGUILAR, 1999). Todos os experimentos foram realizados duas vezes em triplicata.

#### 5.4.3 Atividade quelante do íon ferroso II (FIC)

Foi determinada usando 0,7mL dos EBH nas concentrações de 1000 a 5µg/mL, diluído em 0,7mL de água destilada e misturados com 0,175mL de FeCl<sub>2</sub> (0,5mM). A absorbância (A<sub>0</sub>) foi medida a 550nm. Depois disso, a reação foi iniciada pela adição de 0,175mL ferrozina (0,5mM). A mistura foi agitada vigorosamente e deixada à temperatura ambiente durante 20min e a absorbância (A<sub>1</sub>) foi medida a 550nm. Como controle, foi utilizada água destilada (A<sub>controle</sub>). Ácido etilenodiamino tetra-ácetico (EDTA) (0,5mM) foi usado como controle positivo (BRUGNARI et al., 2016). Todos os experimentos foram realizados duas vezes em triplicata.

### 5.5 Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos brutos hidroalcoólicos

#### 5.5.1 Micro-organismos utilizados no estudo

Para a realização dos testes de atividade antibacteriana, foram utilizadas 14 amostras de *C. diphtheriae*, uma de *C. ulcerans* e uma de *C. pseudodiphtheriticum*, isoladas de sítios e países distintos (Tabela 2). Todas as amostras pertencem à bacterioteca do Laboratório de Doenças Bacterianas Respiratórias e Sistêmicas (LDBRS) da Universidade Ceuma, que encontra-se estocadas em glicerol e/ou *Cystine Trypticase Agar* (CTA, Difco).

As amostras foram cultivadas por 24-48h/37°C em meio *Trypticase Soy Broth* (TSB, Difco), *Trypticase Soy Agar* (TSA, Difco) e/ou ágar sangue de carneiro e ágar chocolate telurito (SABBADINI et al., 2010).

**Tabela 2.** Características das amostras de *Corynebacterium* spp. utilizadas no estudo

Amostras	Subespécie	Origem	Fermentação da Sacarose	Toxinogenicidade
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>				
MA 19	<i>intermedius</i>	Difteria/Faringe Maranhão/Brasil	-	+
MA 23	<i>intermedius</i>	Difteria/Faringe Maranhão/Brasil	-	+
MA 52	<i>intermedius</i>	Difteria/Faringe Maranhão/Brasil	-	+
MA 131	<i>intermedius</i>	Difteria/Faringe	-	+

MA 136	<i>intermedius</i>	Maranhão/Brasil Difteria/Faringe	-	+
MA 150	<i>intermedius</i>	Maranhão/Brasil Difteria/Faringe	-	-
INCA 402	<i>belfanti</i>	Maranhão/Brasil Pneumonia/Neoplasia/ Trato respiratório inferior/Brasil	+	+
INCA 814	<i>mitis</i>	Maranhão/Brasil Pneumonia/Neoplasia/ Trato respiratório inferior/Brasil	-	+
INCA 5015	<i>mitis</i>	Osteomielite/Brasil	-	-
CAT 5003748	<i>mitis</i>	Cateter nefrostomia/ Brasil	-	-
NCTC 13129	<i>gravis</i>	Difteria/Faringe/ Reino Unido	-	+
CDC-E8392	<i>mitis</i>	Difteria/Faringe Estados Unidos da América	-	+
*ATCC 27010/ C7 <sub>s</sub> (- )	<i>mitis</i>	Difteria/Orofaringe/ Estados Unidos da América	-	-
ATCC 27012	<i>mitis</i>	Difteria/Orofaringe/ Estados Unidos da América	-	+
<b><i>Corynebacterium ulcerans</i></b>				
CDC KC279	NA	Pneumonia/Pulmão/ Estados Unidos da América	-	+
<b><i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i></b>				
ATCC 10700	NA	Garganta/ Estados Unidos da América	-	NA

MA: Maranhão; INCA: Instituto Nacional do Câncer; CAT: Cateter; NCTC: *National Collection of Type Cultures*; CDC: *Centers for Disease Control and Prevention*, Atlanta, GO, USA; ATCC: *American Type Culture Collection*; \*, Amostras homólogas; NA: não se aplica.

Fonte: Autores (2018).

### 5.5.2 Técnica de difusão a partir do poço

Foram confeccionados poços de 10mm de diâmetros em placas de Petri contento meio Ágar Muller Hinton (AMH, Difco). Com auxílio de *swab* estéril, as suspensões bacterianas preparadas em salina estéril com turvações correspondentes a 0,5 da escala de McFarland [ $1,5 \times 10^8$  unidades formadoras de colônias (UFC)/mL] foram semeadas nas placas. Os poços foram preenchidos com aproximadamente 200µL do EBH (concentração, peso seco dos EBH) e em seguida as placas foram incubadas em estufa por 48h a 37°C. Após o período de incubação, mediu-se com uma régua (milímetro) os halos de inibição ao redor dos poços.

Clorafenicol (Inlab) (30µg/mL) foi utilizado como controle positivo e dimetilsulfóxido (DMSO, Vetec) a 10%, solvente utilizado para diluição do EBH, como controle negativo (SILVEIRA et al., 2007; FIRMO et al., 2014; MIRANDA et al., 2015). Os experimentos foram feitos duas vezes em duplicata.

### 5.5.3 Avaliação da concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada através da técnica de microdiluição em microplaca. Para isso, foi preparada suspensões microbianas correspondentes a 0,5 da escala de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL) e diluídas em meio de cultura na proporção 1:10. Foi realizada diluição seriada na proporção de 1:2 dos EBH (concentração inicial o peso seco dos EBH) e adição de meio de cultura e 10µL do inóculo bacteriano em placas de 96 poços (Nest Biotechnology). O volume final de cada poço foi de 200µL. A microplaca foi incubada a 37°C por 48h. O controle negativo foi meio de cultura e inóculo; o controle positivo meio de cultura, antibiótico [Clorafenicol (30µg/mL)] e inóculo; o controle da pureza, o meio de cultura. A revelação do ensaio foi feita pela adição de 30µL de resazurina (0,03%) em cada poço da microplaca, a qual foi novamente incubada por 30 minutos. A CIM foi a menor concentração dos EBH onde não houve mudança de coloração do azul para o róseo. Para a determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM), uma alíquota de 10µL dos poços que não apresentaram crescimento microbiano visível foi retirada e inoculada em placas de AMH. Posteriormente, as placas foram incubadas a 37°C por 48h. A CBM foi a menor concentração dos EBH na qual não houve crescimento celular sobre a superfície do meio de cultura (KOO et al., 2000; SANTURIO et al., 2007). Os EBH foram considerados como agentes bacteriostáticos quando a razão  $CBM/CIM > 4$  e agentes bactericidas quando a razão  $CBM/CIM \leq 4$  (GATSING et al., 2006). Os ensaios foram realizados duas vezes em triplicata.

### 5.5.4 Sinergismo entre os extratos brutos hidroalcoólicos e agentes antimicrobianos convencionais pelo teste de difusão em disco (Método de Kirby & Bauer)

O teste de difusão em disco foi empregado de acordo com as metodologias de Fernandes Júnior et al. (2005) e Betoni et al. (2006) com base no protocolo recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (2003). Foram realizados dois tipos de ensaios, um antibiograma controle (AC) e outro antibiograma considerado tratamento (AT). Placas de Petri contendo AMH foram semeadas com suspensões bacterianas de 14 amostras de *C. diphtheriae* correspondentes a 0,5 da escala de McFarland. No AC adicionou discos dos

agentes antimicrobianos (Oxoid): cloranfenicol (30 $\mu$ g), penicilina (10U), rifampicina (5 $\mu$ g), eritromicina (15 $\mu$ g), ofloxacino (5 $\mu$ g) e cefalotina (30 $\mu$ g). Já no AT, além das amostras bacterianas e os discos dos fármacos antimicrobianos presente no meio AMH, injetou-se 10 $\mu$ L de  $\frac{1}{4}$  da CIM dos EBH sobre os discos. Após 48h a 37°C, fez-se a leitura das zonas de inibição (milímetros). Os antibiogramas (AC e AT) foram comparados estatisticamente. Os ensaios foram realizados duas vezes.

#### 5.5.5 Avaliação da atividade antibiofilme dos extratos brutos hidroalcoólicos

##### 5.5.5.1 Ensaio de inibição da formação do biofilme por *Corynebacterium* spp

A partir da adaptação das metodologias descrita por Stepanovic et al. (2000) e Gomes et al. (2013), foram aplicados 200 $\mu$ L de suspensões bacterianas em TSB (DO 0,2;  $\lambda$ =570nm) nos poços de microplacas de 96 poços com e sem  $\frac{1}{4}$  da CIM dos EBH (100 $\mu$ L). O controle negativo conteve apenas o TSB. Após 48h a 37°C, o conteúdo de cada poço foi aspirado e lavado duas vezes com 200 $\mu$ L de PBS (pH 7,2; 0,01M). As células bacterianas anexas remanescentes foram fixadas com 200 $\mu$ L de metanol a 99% (Synth Labsynth) e foram coradas com cristal violeta 2% (Cinética Jand Quimica). O corante ligado foi então solubilizado com 160 $\mu$ L de ácido acético glacial a 33% (Synth Labsynth) e a DO ( $\lambda$ =550nm) da solução foi medida. Os ensaios foram realizados duas vezes em triplicata.

##### 5.5.5.2 Erradicação do biofilme pré-formado por *Corynebacterium* spp

A partir da adaptação das metodologias descrita por Stepanovic et al. (2000) e Gomes et al. (2013), foram aplicadas 200 $\mu$ L de suspensões bacterianas em TSB (DO 0,2;  $\lambda$ =570nm) nos poços de microplacas de 96 poços. O controle negativo conteve apenas o TSB. Após 24h a 37°C, o conteúdo de cada poço foi aspirado e lavado duas vezes com 200 $\mu$ L de PBS e em seguida acrescentado 200 $\mu$ L de TSB para o controle e 100 $\mu$ L de TSB mais 100 $\mu$ L de  $\frac{1}{4}$  da CIM dos EBH nos poços para verificar a erradicação do biofilme e depois incubou as microplacas por 24h a 37°C. Após esse período, aspirou o conteúdo dos poços e lavou duas vezes com 200 $\mu$ L de PBS e as células bacterianas anexas remanescentes foram fixadas com 200 $\mu$ L de metanol a 99% e foram coradas com cristal violeta a 2%. O corante ligado foi então solubilizado com 160 $\mu$ L de ácido acético glacial a 33% e a DO ( $\lambda$ =550nm) da solução foi medida. Os ensaios foram realizados duas vezes em triplicata.

## 5.6 Avaliação da toxicidade *in vitro* e *in vivo*

### 5.6.1 Atividade hemolítica

Para o ensaio foram obtidas hemácias de humano voluntário e saudável (com nenhuma história recente de antibioterapia ou uso de drogas anti-inflamatória e/ou doenças infecciosas ou inflamatórias 3 semanas antes da coleta da amostra). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) com Seres Humanos da Universidade Ceuma sob o número do parecer: 1.732.522 (ANEXO A).

O ensaio foi realizado segundo o método de Yang et al. (2005). Coletou-se o sangue e uma alíquota de 4mL foi lavada três vezes com solução salina (0,9%) por centrifugação a 3000rpm, durante 5min, sendo o sobrenadante descartado. Os eritrócitos sedimentados no tubo foram diluídos em solução salina até obtenção de uma suspensão a 1%. Um volume de 0,5mL desta suspensão de células foi misturado a 0,5mL de soluções contendo concentrações de 1000 a 5µg/mL dos EBH. As misturas foram incubadas a 37°C, com agitação contínua, durante 60min. As soluções foram, então, centrifugadas a 3000rpm por 5min. A absorvância do sobrenadante foi medida a 540nm. As suspensões de hemácias acrescidas de solução salina e de água destilada foram, respectivamente, os controles hemolíticos mínimo e máximo. Para eliminar a interferência dos EBH na absorvância, foram preparadas soluções controle (branco), não havendo a adição da solução de hemácias. Todos os experimentos foram realizados duas vezes em triplicata.

### 5.6.2 Ensaio de toxicidade em células Vero via brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólico (MTT)

Foram adicionados 100µL de suspensão de células Vero ( $4 \times 10^5$ /mL) em placa de 96 poços, que foram incubadas a 37°C por 6h, com atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>. Após esse período, foi observada a formação de uma monocamada de 100% de células aderidas. O meio de cultura de cada poço foi retirado e em seguida adicionou soluções dos EBH nas concentrações de 1000 a 7,8125µg/mL, dissolvidos em Tampão fosfato-salino (PBS pH 7,2; 0,01M). A placa foi incubada a 37°C com 5% de CO<sub>2</sub> e após 24h, foram adicionados a cada poço 40µL (5mg/mL) de brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólico (MTT) e a placa incubada por mais 3h. Os sobrenadantes foram removidos, 100µL de DMSO foi adicionado a cada poço para interromper a reação e solubilizar os cristais de formazana. A placa foi incubada novamente por 10 min. A densidade óptica foi medida em 570nm. A quantidade de

formazana é diretamente proporcional ao número de células viáveis (JANDÚ et al., 2013; KARUSKY et al., 2015). Os experimentos foram realizados duas vezes em triplicata.

### 5.6.3 Ensaio com *Artemia salina*

O teste de toxicidade utilizando *Artemia salina* foi realizado segundo a metodologia de Meyer et al. (1982), com algumas alterações. Após a eclosão dos ovos e o tempo para as larvas alcançarem o estágio de metanúplio (24 horas), as larvas foram transferidas para recipientes plásticos, ficando 10 larvas em cada receptáculo contendo solução salina e soluções dos EBH nas concentrações de 1000 a 5µg/mL. Como controle negativo utilizou-se, solução salina e DMSO a 0,01%. Após 24 horas de contato, contaram-se os animais mortos. Todos os experimentos foram realizados duas vezes em duplicata.

### 5.6.4 Bioensaio utilizando larvas de *Tenebrio molitor*

As larvas de *Tenebrio molitor* foram separadas, contadas, pesadas (~ 100mg), desinfetadas com álcool a 70% e distribuídas 10 larvas em grupos experimentais (teste e controle) em placas de Petri. Concentrações de 1000 a 5µg/mL dos EBH foram preparadas a partir de solução salina (0,9%) e DMSO a 1%. Com auxílio de seringa de insulina, injetou-se 10µL dos EBH na região caudal das larvas na segunda esternite visível, na porção ventral. O controle negativo foi solução salina (0,9%) e DMSO a 1%. As larvas permaneceram em temperatura ambiente e a taxa de sobrevivência foi observada em intervalos de 24h, durante 5 dias. Para estabelecer a morte das larvas, verificou-se visualmente a melanização e a resposta aos estímulos físicos tocando-as suavemente (LIMA et al., 2011; SOUZA et al., 2016). Os experimentos foram realizados duas vezes em duplicata.

## 5.7 Análise estatística

Utilizou o programa GraphPad Prism 6 para análises dos dados de atividade antibacteriana em difusão em poço, sendo esses expressos como média ± desvio-padrão. Assim como, para os testes que determinaram a concentração eficiente, letal e citotóxica utilizou regressão linear e não linear. O ensaio de sinergismo foi analisado pelo teste de Mann-Whitney Rank Sum Test e teste T sendo o resultado considerado significativo se  $p < 0,05$ . Nos ensaios que verificaram as diferenças entre os grupos a comparação foi realizada com o teste de Tukey, sendo o resultado significativo se  $p < 0,05$ . A curva de sobrevivência no ensaio com as larvas de *T. molitor* foi realizada com os testes de Kaplan-Meier analisando os

resultados com o teste Log-Rank (Mantel-Cox), sendo considerado  $p < 0,05$  como significativo.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AARON, L.; HEURTEBISE, F.; BACHELIER, M.N.; GUIMARD, Y. Pseudomembranous diphtheria caused by *Corynebacterium ulcerans*. **La Rev. Méd. Int.**, v. 27, p.333-335, 2006.
- AGOSTINI-COSTA, T.S. et al. Teores de ácido anacárdico em pedúnculos de cajueiro *Anacardium microcarpum* e em oito clones de *Anacardium occidentale* var. *nanum* disponíveis no Nordeste do Brasil. **Ciência Rural**, v.34, n.4, p.1075-1080, 2004.
- AGRA, M.F.; FRANÇA, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Rev Bras Farmacogn.** v.17, p.114-140, 2007.
- AKINPELU, D.A. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. **Fitoterapia**, v.72, p.286-287, 2001.
- ALBUQUERQUE, U.P.; ANDRADE, L.H.C. Uso de recursos vegetais da caatinga: o caso do Agreste do estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **Interciência**, v.27, n.7, p. 1-20. 2002.
- ALBUQUERQUE, L. B. L.; BELO, C. A. D.; SANTOS, M. G.; LOPES, P. S.; GERENUTTI, M.; OSHIMA-FRANCO, Y. Assessment of Cytotoxicity, Fetotoxicity, and Teratogenicity of *Plathymenia reticulata* Benth Barks Aqueous Extract. **BioMed Research International**. p. 1-8. 2013.
- ALMEIDA, M.M.B. et al. Determinação de nutrientes minerais em plantas medicinais. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.22, n.1, p.94-97, 2002.
- ALMEIDA, M.M.B.; SOUSA, P. H. M.; FONSECA, M. L.; MAGALHAES, C. E. C.; LOPES, M. F. G.; LEMOS, T. L. G. Avaliação de macro e micronutrientes em frutas tropicais cultivadas no nordeste brasileiro. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 29, n.3, p. 581-586, 2009.
- ALMEIDA, S.P. et al. **Cerrado: Espécies Vegetais Úteis**. Planaltina, EMBRAPA-CPAC, 1998. 456p.
- ALMEIDA, J. M. D; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 26, n.2, p.446-452, 2006.
- ALMEIDA, K. C.; BARBOSA, T. R.; SILVA, R. N. R.; JACQUES, D. S.; FREIRE, R. B. Efeito citotóxico do infuso aquoso de *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). **Rev. Bras. Farm.**, v. 87, n.2, p.60-62, 2006.
- ALVAN, G.; EDLUND, C.; HEDDINI, A. The global need for effective antibiotics - a summary of plenary presentations. **Drug Resistance Updates**, v.14, p.70-76, 2011.
- ALVES, D. P. et al. Chromatographic evaluation and antimicrobial activity of neem (*Azadirachta indica* A. juss., Meliaceae) leaves hydroalcoholic extracts. **Revista Bras. de Farmacognosia**, v. 19, n. 2, p 510-515, 2009.

ALVES, P.M. et al. Atividade antifúngica do extrato de *Psidium guajava* Linn. (goiabeira) sobre leveduras do gênero *Candida* da cavidade oral: uma avaliação *in vitro*. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.16, n.2, p.192-196, 2006.

ALVES, A. M.; DIAS, T.; HASSIMOTTO, N. M. A.; NAVES, M. M. V. Ascorbic acid and phenolic contents, antioxidant capacity and flavonoids composition of Brazilian Savannah native fruits. **Food Sci. Technol**, v. 37, n.4, p. 564-569, 2017.

AMARANTE, C.B. et al. Estudo espectrométrico das folhas da aninga (*Montrichardia linifera*) coletadas à margem do rio Guamá no campus da UFPA, Belém-PA. Uma contribuição ao estudo químico da família Aecaceae. **Revista científica da UFPA.**, v.7, n.1, p.1-19, 2009.

AMARANTE, C.B.; GERMANO, C.; LUCAS, F.C.A. Determinação dos micronutrientes Cu, Fe, Zn e Mn em plantas alimentícias consumidas na comunidade rio Urubueua de Fátima, Abaetetuba, PA. **Enciclopédia Biosfera**, v.7, n.12, p.1-11, 2011.

AMBRÓSIO, S.R. et al. Atividade leishmanicida de LSTs de *Tithonia diversifolia* (Asteraceae). In: **30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. Águas de Lindóia, SP. Resumos.

ANDRADE, S.F.; CARDOSO, L.G.; BASTOS, J.K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, n. 3, p. 464-471, 2007.

ANILA, L.; VIJAYALAKSHMI, N.R. Antioxidant action of flavonoids from *Mangifera indica* and *Embllica officinalis* in hypercholesterolemic rats. **Food Chem**, v.83, p.569-574, 2003.

ANTUNES, C.A. et al. Characterization of DIP0733, a multi-functional virulence factor of *Corynebacterium diphthriae*. **Microbiology**. v.161, n.3, p.639-47, 2015.

ARAÚJO, E.C. et al. Use of medicinal plants by patients with cancer of public hospitals in João Pessoa (PB). **Revista Espaço para a Saúde**, v. 8, n. 2, p. 44-52, 2007.

ARAÚJO, E. R. et al. Extratos de *Piper marginatum* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum scovillei* em pimentão. **Pesq. Agropec. bras.**, v.49, n.2, p.88-94, 2014.

ARAÚJO, J.S.C. **Investigação dos efeitos citotóxico, genotóxico e o potencial antibacteriano associados ao biofilme dental dos taninos isolados de *Anacardium occidentale* Linn e *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande-PB, 2013.

ARAÚJO, T. A. S. **Atividade antioxidante de plantas medicinais da caatinga e mata atlântica: aspectos etnobotânicos e ecológicos**. 2012. 138f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.

ARAÚJO, J. S. C.; CASTILHO, A. R. F.; LIRA, A. B.; PEREIRA, A. V.; AZEVÊDO, T. K. B.; COSTA, E. M. M. B.; PEREIRA, M. S. V.; PESSÔA, H. L. F.; PEREIRA, J. V. Antibacterial activity against cariogenic bacteria and cytotoxic and genotoxic potential of

*Anacardium occidentale* L. and *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan extracts. **Archives of Oral Biology**, v. 85, p. 113-119, 2018.

ARAÚJO, S. A.; SOARES, A. M. S.; SILVA, C. R.; ALMEIDA JÚNIOR, E. B.; ROCHA, C. Q.; FERREIRA, A. T. S.; PERALES, J.; COSTA JÚNIOR, L. M. *In vitro* anthelmintic effects of *Spigelia anthelmia* protein fractions against *Haemonchus contortus*. **PLoS ONE**, v. 12, n.12, p.1-11, 2017.

ARRUDA, A.C.C. **Avaliação da toxicidade subcrônica e reprodutiva do extrato seco de pericarpo de *Passiflora edulis* variedade *flavicarpa* Degener em ratos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal. 2015.

BADKE, M.R. et al. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Esc. Anna Nery**, v.15, n.1, p.132-139, 2011.

BARBOSA-FILHO, J.M.; VASCONCELOS, T.H.C.; ALENCAR, A.A.; BATISTA, L.M.; OLIVEIRA, R.A.G.; GUEDES, D.N.; FALCÃO, H.S.; MOURA, M.D.; DINIZ, M.F.F.M.; MODESTO-FILHO, J. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. **Rev Bras Farmacogn**. v.15, p.392-413, 2005.

BARBOSA-FILHO, J.M.; MEDEIROS, K.C.P.; DINIZ, M.F.F.M.; BATISTA, L.M.; ATHAYDE-FILHO, P.F.; SILVA, M.S.; CUNHA, E.V.L.; ALMEIDA, J.R.G.S.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J. Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. **Rev Bras Farmacogn**. v.16, p.258-285, 2006.

BARBOSA FILHO, V. M. **Avaliação do potencial antioxidante e antibacteriano de *Anacardium microcarpum* e sua toxicidade em diferentes modelos biológicos *in vitro***. 2015. 83f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.

BARRET, N.J. Communicable disease associated with milk and dairy products in England and Wales. **J. Infect.**, v. 12, p. 265-272, 1986.

BATITUCCI, M.C.P. **Estudo dos efeitos cardiovasculares do extrato hidroalcoólico de plantas do gênero *Solanum*: aspectos fisio-farmacológicos e citogenéticos**. Tese de Doutorado. Vitória, Universidade Federal do Espírito Santo, 2003.

BEAVIS, K.G.; WEYMOUTH, L.A. **Cellular and molecular pathology of diseases**. In: Alfonse E, Sirica (eds.) Cellular and molecular pathogenesis. USA: Lippincot-Raven Publisher, 1996, p. 219-244.

BELCAVELLO, L. et al. Citotoxicidade e danos ao DNA induzidos pelo extrato de *Zornia diphylla*, uma planta medicinal. **Natureza online**, v.1, n.3, p.140-145, 2012.

BENÍCIO, D.A.; QUEIROGA NETO, V.; SOUSA, J.G. Avaliação das propriedades físico-químicas e da composição química parcial do óleo de sementes de nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss), cultivado no município de Patos-Paraíba. **BioFar**, v.4, n.2, p. 22-33, 2010.

- BENOIT-VICAL, F.O.; IMBERT, C.; JEAN-PAUL, B.O.N. Antiplasmodial and antifungal activities of iridal, a plant triterpenoid. **Phytochemistry**, v. 62. p. 747-751, 2003.
- BERNAUD, F.S.R.; FUNCHAL, C. Atividade antioxidante do açaí. **Nutrição Brasil**, v.10, n.5, p.310-316, 2011.
- BERNARDI, N.O.; MEURER, M.; ARANTES, V.P. Estudo da atividade antibacteriana de extratos vegetais de *Azadirachta indica* "Neem" frente a cepa padrão de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. **Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR**, v. 16, n. 3, p. 117-122, 2012.
- BERQUO, L.S.; BARROS, A.J.D.; LIMA, R.C.; BERTOLDI, A.D. Utilização de medicamentos para tratamento de infecções respiratórias na comunidade. **Rev Saúde Pública**, v.38, n.3, p.358-364, 2004.
- BESSA, N.G.F. et al. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.15, n.4, p.692-707, 2013.
- BERTUCCINI, L.; BALDASSARI, L.; VON HUNOLSTEIN. Internalization of non-toxicogenic *Corynebacterium diphtheriae* by cultured human respiratory epithelial cells. **Microb Pathog**, v.37, p.111-118, 2004.
- BEVILACQUA, A. H. V.; SUFFREDINI, I. B.; BERNARDI, M. M. Toxicidade de Neem, *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), em *Artemia* sp: comparação da preparação comercial e do óleo puro. **Rev Inst Ciênc Saúde**. v.26, n.2, p.157-160, 2008.
- BEZERRA, J.A.F. et al. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de anastomose colônia em ratos: estudo morfológico e tensiométrico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.21, n.3, p.16-25, 2006.
- BETONI, J. E. C.; MANTOVANI, R. P.; BARBOSA, L. N.; DI STASI, L. C.; FERNADNES JÚNIOR, A. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, p. 387-390, 2006.
- BIBERSTEIN, E.L. **Corynebacterias; Actinomyces pyogenes; Rhodococcus equi**. In: BIBERSTEIN, E.L.; ZEE, Y.C. Tratado de Microbiologia Veterinária. Acriba, Zaragoza. p. 185-193. 1994.
- BITTAR, F. et al. Outbreak of *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* infection in cystic fibrosis patients, France. **Emerg Infect Dis**. v.16, p. 1231-6, 2010.
- BITRAGUNTA, S. et al. Safety and immunogenicity of single dose of tetanus-diphtheria (Td) vaccine among non/partially immune children against diphtheria and/or tetanus, Hyderabad, India, 2007. **Vaccine**. v.28, n.37, p.5934-5938, 2010.
- BONA, E.A.M. et al. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arq. Inst. Biol.**, v.81, n.3, p.218-225, 2014.

BONMARIN, I. et al. Diphtheria: a zoonotic disease in France? **Vaccine**, v. 27, p.4196-4200, 2009.

BONNET, J.M.; BEGG, N.T. **Control of diphtheria: guidance for consultants in communicable disease control**. World Health Organization. Commun Dis Public Health. v. 2, p. 242-249, 1999.

BOSTOCK, A.D. et al. *Corynebacterium ulcerans* infection associated with untreated milk. **J. Infect.**, v. 9, p.286-288, 1984.

BOSE, U. et al. Antinociceptive, cytotoxic and antibacterial activities of *Cleome viscosa* leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.21, n.1, p.165-169, 2011.

BOTH, L.; COLLINS, S.; DE ZOYSA, A.; WHITE, J.; MANDAL, S.; EFSTRATIOU, A. Molecular and epidemiological review of toxigenic diphtheria infections in England between 2007 and 2013. **J. Clin. Microbiol.** v.53, n.2, p.567-572, 2015.

BRAGA, L.L.; TOLENTINO, G.S.; SANTOS, M.R.; VELOSO, M.D.M; NUNES, Y.R.F. Germinação de Sementes de *Plathymenia reticulata* Benth. (Fabaceae- Mimosoideae) sob Influência do Tempo de Armazenamento. Nota Científica. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, supl.2, p.258-260, 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Sci. Technol.**, v.28, p.25-30, 1995.

BRAMBILLA, L. Z. S.; ENDO, E. H.; CORTEZ, D. A. G.; DIAS FILHO, B. P. Anti-biofilm activity against *Staphylococcus aureus* MRSA and MSSA of neolignans and extract of *Piper regnellii*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.27, p. 112-117, 2017.

BRASIL. Guia Brasileiro de Vigilância Epidemiológica/Ministério da Saúde/Fundação Nacional de Saúde/Centro Nacional de Epidemiologia. **Difteria**. Vigilância Epidemiológica de Doenças e Agravos Específicos. Capítulo 5.6; 1998. Disponível na URL: <http://www.cro-rj.org/biosseguranca/Guia%20de%20Vigilancia%20Epidemiologica.pdf>. Acesso em 10 de Março de 2010.

BRASIL. **Sistema de Informação de Agravos de Notificação**/ Ministério da Saúde – SINAN/MS; 2007. Disponível na URL: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos\\_difteria.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_difteria.pdf). Acesso em 10 de Março de 2010.

BRIGHENTI, F. L.; JARDIM JÚNIOR, E. G.; DANELON, M.; EVANGELISTA, G. V.; DELBEM, A. C. B. Effect of *Psidium cattleianum* leaf extract on enamel demineralisation and dental biofilm composition *in situ*. **Archives of Oral Biology**, v.57, p. 1034-1040, 2012.

BROINIZI, P. R. B.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; SILVA, A. M. O.; NOVOA, A. J. V.; TORRES, R. P.; AZEREDO, H. M. C.; ALVES, R. E.; MANCINI FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 27, n.4, p.902-908, 2007.

BROINIZI, P. R. B.; WARTHA, E. R. S. A.; SILVA, A. M. O.; TORRES, R. P.; AZEREDO, H. M. C.; ALVES, R. E.; MANCINI FILHO, J. Propriedades antioxidantes em subproduto do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.): efeito sobre a lipoperoxidação e o perfil de ácidos graxos poliinsaturados em ratos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 44, n. 4, p.773-781, 2008.

BRUGNARI, T.; KATO, C. G.; CORREA, V. G.; FREITAS, E. N.; NOLLI, M. M.; SOUZA, C. G. M. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO AQUOSO DO COGUMELO COMESTÍVEL *Pleurotus ostreatus*. **Uningá Review.**, v. 25, n. 3, p. 46-50, 2016.

BUKOWSKA, B., KOWALSKA, S. Phenol and catechol induce prehemolytic and hemolytic changes in human erythrocytes. **Toxicol Lett.**, v.152, p.73-84, 2004.

BUSH, K. et al. Tackling antibiotic resistance. **Nature Reviews Microbiology**, v.9, p.894-896, 2011.

CABRAL, P.R.F.; PASA, M.C. Mangava-brava: *Lafoensia pacari*A. St.-Hil. (Lythraceae) e a etnobotânica em Cuiabá, MT. **Rev. Biodiver**, v.8, n.1, p.2-21, 2009.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 33, n. 2, p. 179- 189, 2000.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 131-134, 2005.

CALVIELLO, G. et al. Mg deficiency induces mineral content changes and oxidative stress in rats. **Biochem Mol Biol Int**. v.32, n.5, p.903-11, 1994.

CAMELLO, T.C.F.; MATTOS-GUARALDI, A.L.; FORMIGA, L.C.D.; MARQUES, E.A. Nondiphtherial *Corynebacterium* species isolated from clinical specimens of patients in a university hospital, Rio de Janeiro, Brazil. **Braz J Microbiol**, v.34, p.39-44, 2003.

CAMELLO, T.C. et al. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* isolated from relevant clinical sites of infection: a human pathogen overlooked in emerging countries. **Lett Appl Microbiol**. v. 4, p. 458-64, 2009.

CAMPOS, J.S.; FRASSON, A.P.Z. Avaliação da atividade antioxidante do extrato aquoso de *Lafoensia pacari* A. ST.-Hil. em emulsão não-iônica. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v.32, n.3, p.363-368, 2011.

CESPEDES, C. L.; SALAZAR, J. R.; MATINEZ, M.; ARANDA, E. Insect growth regulatory effects of some extracts and sterols from *Myrtillocactus geometrizans* (Cactaceae) against *Spodoptera frugiperda* and *Tenebrio molitor*. **Phytochem.**, v.66, p.2481-2493, 2005.

CANTARELLI, V.V. et al. Cutaneous infection caused by *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*: a microbiological report. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**. v.50, p.51-52, 2008.

CARLINI, E.A.; RODRIGUES, E.; MENDES, F.R.; TABACH, R.; GIANFRATTI, B. Treatment of drug dependence with Brazilian herbal medicines. **Rev Bras Farmacogn.** v.16, p.690-695, 2006.

CARMONA, F.; PEREIRA, A. M. S. Herbal medicines: old and new concepts, truths and misunderstandings. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** v.23, p.379, 2013.

CARNEIRO, S.M.T.P.G.; PIGNONI, E.; GOMES, J.C. Efeito do nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) no controle da mancha angular do feijoeiro. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.10, n.3, p.6-10, 2008.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidade e uso da madeira.** Brasília: EMBRAPA, CNPF. Colombo, 1994.

CARVALHO, A.A.T. et al. Atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos hidroalcoólicos de *Psidium guajava* L. sobre bactérias Gram-negativas. **Acta Farm. Bonaerense**, v.21, n.4, p.255-258, 2002.

CASTRO, D. S.; MOREIRA, I. S.; SILVA, L. M. M.; SILVA, W. P.; GOMES, J. P. Composição físico-química e de compostos fenólicos em goiaba liofilizada. In: CONGRESSO TÉCNICO CIENTÍFICO DA ENGENHARIA E DA AGRONOMIA, 2016, Foz do Iguaçu. **Anais.** Foz do Iguaçu: CONTECC, 2016.

CASTRO, M. N. M.; BARROS, M. E. S.; DÔRES, R. G. R.; STEFANI, R. Atividade antifúngica e toxicidade das inflorescências de flor-do-Amazonas (*Tithonia diversifolia*). **Revista Eletrônica de Farmácia.** v. VII, n.3, p.72-81, 2010.

CATÃO, R.M.R. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de riparinas sobre cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* multirresistentes. **RBAC**, v. 37, n. 4, p. 247-249, 2005.

CATHERINE NETO, C. et al. Antibacterial activity of some Peruvian medicinal plants from the Callejon de Huaylas. **Journal of Ethnopharmacology**, v.79, p.133-138, 2002.

CAXAMBÚ, S. et al. Evaluation of the antimicrobial activity of pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] shell aqueous extract on minimally processed lettuce leaves. **Food Sci. Technol**, 2016.

CAZARIN, C. B. B.; SILVA, J. K.; COLOMEU, T. C.; ZOLLNER, R. L.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. Capacidade antioxidante e composição química da casca de maracujá (*Passiflora edulis*). **Ciência Rural**, v.44, n.9, p.1699-1704, 2014.

CDC. Center for Disease Control and Prevention. **Toxigenic *Corynebacterium diphtheriae*-Northen plains Indian Community, August-October 1996.** MMWR Morb Mortal Wkly Rep. v. 46, 506-610, 1997.

CHANDA, S. et al., Antimicrobial, antioxidant, and synergistic properties of two nutraceutical plants: *Terminalia catappa* L. and *Colocasia esculenta* L. **Turk J Biol**, v.37, p.81-91, 2013.

CHANG, M.P.; BALDWIN, R.L.; BRUCE, C.; WISNIESKI, B.J. Second cytotoxic pathway of diphtheria toxin suggested by nuclease activity. **Science**. v.246, n.4934, p.1165-8, 1989a.

CHANG, M.P.; BRAMHALL, J.; GRAVES, S.; BONAVIDA, B.; WISNIESKI, B.J. Internucleosomal DNA cleavage precedes diphtheria toxin-induced cytolysis: evidence that cell lysis is not a simple consequence of translation inhibition. **J Biol Chem**. v.264, n.26, p.15261-7, 1989b.

CHAVES, M. B. S.; MARCONDES, L. H. Q.; PIVA, P. A.; KONRATH, I. T.; GRAÇAS, S. B.; GERRERO, A. T. G.; GUILHERMINO, J. F.; YANO, M. Determinação dos teores de fenóis totais, quinonas e atividade antioxidante do noni (*Morinda citrifolia*) e do nim indiano (*Azadirachta indica*). **Revista de Biotecnologia & Ciência.**, v.1, n. 2, 2013

CHAVES, M. H.; CITÓ, A. M. G. L.; LOPES, J. A. D.; COSTA, D. A.; OLIVEIRA, C. A. A. Fenóis totais, atividade antioxidante e constituintes químicos de extratos de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 20, n.1, p.106-112, 2010.

CHAVEZ, P. I.; SÁNCHEZ, I. A.; GONZÁLEZ, F. A.; RODRÍGUEZ, J. L.; AXELROD, F. Cytotoxicity correlations of puerto rican plants using a simplified brine shrimp lethality screening procedure. **Pharmaceutical Biology**, v. 35, p. 222-226, 1997.

CHATTOPADHYAY, R. R. et al. A avaliação comparativa do potencial antibacteriano de algumas plantas utilizadas na medicina tradicional indiana para o tratamento de infecções microbianas. **Braz. Arco. Biol. Tecnologia**, v. 52, n. 5, p.1123-1128, 2009.

CHINER, E., et al. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* pneumonia in an immunocompetent patient. **Monaldi Arch Chest Dis**.v.54, p.325-327, 1999.

CLARRIDGE, J.E.; SPRIGEL, C.A. *Corynebacterium* and miscellaneous irregular Gram-positive rods, *Erysipelothrix* and *Gardnerella*. In: MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; PFALLER, M.A.; TENOVER, F.C.; YOLKEN, R.H. (eds). Manual of Clinical Microbiology, Washington DC: American Society for Microbiology Press, 357-373; 1995.

COCITO, C.; DELVILLE, J. Biological, chemical, immunological and staining properties of bacteria isolated from tissues of leprosy patients. **Eur J Epidemiol**. v.1, n3, p.202-31, 1985.

COELHO, A.M.S.P. et al. Atividade antimicrobiana de *Bixa orellana* L. (Urucum). **Revista Lecta**, v. 21, n. 1/2, p. 47-54, 2003.

COLOMBO, A.V.; HIRATA, JR. R.; ROCHA-DE-SOUZA, C.M.; MONTEIRO-LEAL, L.H.; PREVIATO, J.O.; FORMIGA, L.C.D.; ANDRADE, A.F.B.; MATTOS-GUARALDI, A.L. *Corynebacterium diphtheriae* surface protein as adhesion to human erythrocytes. **FEMS Microbiol Lett**, v.197, p.235-239, 2001.

CÓRDOVA, K.V. et al. Características físico-químicas da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Flavicarpa Degener) obtida por secagem. **B. CEPPA.**, v.23, n.2, p.221-230, 2005.

CORREIA, S.J.; DAVID, J.P.; DAVID, J.M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Quím. Nova**, v.29, n.6, p.1287-1300, 2006.

CORRÊA, R. C. G.; PERALTA, R. M.; HAMINIUK, C. W. I.; MACIEL, G. M.; BRACHT, A.; FERREIRA, I. C. F. R. The past decade findings related with nutritional composition, bioactive molecules and biotechnological applications of *Passiflora* spp. (passion fruit). **Trends in Food Science & Technology**, v.58, p.79-95, 2016.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 5. ed. Lisboa:Fundação Calouste Gulbenkian, 1994. 1031 p.

COSTA, J.G.M.; LEITE, G.O.; DUBOIS, A.F.; SEEGER, R.L.; BOLIGON, A.A.; ATHAYDE, M.L.; CAMPOS, A.R.; ROCHA, J.B.T. Antioxidant effect of *Stryphnodendron rotundifolium* Martius extracts from Cariri-Ceará State (Brazil): potential involvement in its therapeutic use. **Molecules**, v. 17, p. 934-950, 2011.

COUTINHO, H.D.M. et al. Atividade antimicrobiana de produtos naturais. **Conceitos**, p.77-85, 2003/2004.

COSTERTON, J. W.; STEWART, P. S.; GREENBERG, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**. v.284, n.5418, p.1318-1322, 1999.

CONCEIÇÃO, G.M. et al. Teores de micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn e Zn) em espécies de *Poaceae* de uma área de cerrado maranhense. **Brazilian Geographical Geosciences and Humanities research médium**. v.6, n.1, p.58-73, 2015.

CUNHA, L.C.S. Chemical composition, cytotoxic and antimicrobial activity of essential oils from *Cassia bakeriana* Craib. Against aerobic and anaerobic oral pathogens. **Molecules**, v.18, p.4588-4598, 2013.

DAFERERA, D.J. et al. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Crop Protection**, v.22. p.39-44, 2003.

DAS, P.P. et al. Recent Outbreak of diphtheria in Dibrugarh District, Assam, India. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v.10, n.7, p.DR01-DR03, 2016.

DESSAU, R.B.; BRANDT-CHRISTENSEN, M.; JENSEN, O.J.; TONNESEN, P. Pulmonary nodules due to *Corynebacterium ulcerans*. **Eur. Respir.**, v. 8, p.651-653, 1995.

DESOTI, V. C.; MALDANER, C. L.; CARLETTO, M. S.; HEINZ, A. A.; COELHO, M. S.; PIATI, D.; TIUMAN, T. S. Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. **Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR**, v. 15, n. 1, p. 3-13, 2011.

DEVIENNE, K.F.; RADDI, M.S.G.; POZETTI, G.L. Das plantas medicinais aos fitofármacos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.6, n.3, p.11-4, 2004.

DEWINTER, L.M.; BERNARD, K.A.; ROMNEY, M.G. Human clinical isolates of *Corynebacterium diphtheriae* and *Corynebacterium ulcerans* collected in Canada from 1999

to 2003 but not fitting reporting criteria for cases of diphtheria. **J Clin Microbiol.** v.43, p.3447-3449, 2005.

DEZOYSA, A. et al. Characterization of toxigenic *Corynebacterium ulcerans* strains isolated from humans and domestic cats in the United Kingdom. **J. Clin. Microbiol.**, v.43, p.4377-4381, 2005.

DHAWAN , K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. *Passiflora*: a review update. **Journal of Ethnopharmacology**, v.94, n.1, p.1-23, 2004.

DIAS, A.A.S.O. et al. *Corynebacterium ulcerans* isolated from an asymptomatic dog kept in an animal shelter in the metropolitan area of Rio de Janeiro, Brazil. **Vector Borne Zoonotic Dis.** v.10, n.8, p.743-8, 2010.

DIAS, A.A.S.O. et al. Difteria pelo *Corynebacterium ulcerans*: uma zoonose emergente no Brasil e no mundo. **Rev Saúde Pública.** v.45, n.6, p.1176-91, 2011.

DIAS-SOUZA, M. V.; SANTOS, R. M.; SIQUEIRA, E. P.; FERREIRA-MARÇAL, P. H. 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**, v. 25, p. 589-596, 2017.

DÍAZ, Y. M.; LAVERDE, G. V.; GAMBA, L. R.; WANDURRAGA, H. M.; ARÉVALO-FERRO, C.; RODRÍGUEZ, F. R.; BELTRÁN, C. D.; HERNÁNDEZ, L. C. Biofilm inhibition activity of compounds isolated from two *Eunicea* species collected at the Caribbean Sea. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** v.25, p.605-611, 2015.

DINIS, T. C. P.; MADEIRA, V. M. C.; ALMERIDA, L. M. Action of phenolic derivatives as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. **Arch Biochem Biophys.** v. 315, n. 1, p.161-169, 1994

DITTMAN, S. et al. Successful control of epidemic diphtheria in the State of former Union of Soviet Socialist Republics: lessons learned. **J. Infect. Dis.**, v.181, p.S10-S20, 2000.

DONLAN, R. M.; COSTERTON, J. W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 15, n. 2, p. 167-193, 2002.

DORMAN, H. J. D.; KOSAR, M.; KAHLOS, K.; HOLM, Y.; HILTUNEN, R. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, Hybrids, Varieties, and Cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 16, p. 4563-4569, 2003.

DORMAN H.; KOŞAR, M.; BAŞER, K.; HILTUNEN, R. Phenolic profile and antioxidant evaluation of *Mentha x piperita* L. (peppermint) extracts. **Natural Product Communications**, v. 4, n. 4, p. 535–542, 2009.

DRAVID, M.N.; JOSHI, S.A. Resurgence of diphtheria in Malegaon & Dhule regions of north Maharashtra. **Indian J Med Res.** v. 127, p. 616–617, 2008.

D'SILVA, P.R.; LALA, A.K. Organization of diphtheria toxin in membranes. A hydrophobic photolabelin study. **J Biol Chem.** v.275, n.16, p.11771-7, 2000.

DUARTE, M.C.T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **MultiCiência**, v.7, 2006.

DUTRA, R.P.; NOGUEIRA, A.M.C.; MARQUES, R.R.O.; COSTA, M.C.P.; RIBEIRO, M.N.S. Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith (tiúba) em municípios da Baixada maranhense, Brasil. **Rev Bras Farmacogn**, v.18, n4, p.557-562, 2008.

DUTRA, F. S. G.; CARLOS, L. A.; MOTTA, O. V.; VIANNA, A. P.; PEREIRA, S. M. F. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais frente à bactérias de importância médica. **Persp. Online: biol. & saúde**. V.20, n.6, p.1-13, 2016.

DZUPOVA, O. et al. An unusual course of invasive infection due to nontoxinogenic strain of *Corynebacterium diphtheriae*. **Klin Mikrobiol Infekc Lek.** v. 11, p. 222-225, 2005.

EFFERTH, T.; KOCH, E. Complex interactions between phytochemicals. The multi-target therapeutic concept of phytotherapy. **Current Drug Targets.**, v.12, p.122, 2011.

EISEMBRAND, G. et al. Methode of in vitro toxicology. **Food and Chemical Toxicology**, v.40, n.1, p.193-236, 2002.

EMERENCIANO, D.P. et al. Determinação da propriedade antioxidante e teores de minerais presentes nas folhas de *Azadirachta indica* A. Juss. **Revista Fitos**, v.8, n.2, p.73-160, 2013.

ERTURAN, G.; HOLME, H.; IYER, S. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* septic arthritis secondary to intra-articular injection--a case report and literature review. **J Med Microbiol.** v. 61, p.860-3, 2012.

FALCÃO, H.S.; LIMA, I.O.; SANTOS, V.L.; DANTAS, H.F.; DINIZ, M.F.F.M.; BARBOSA-FILHO, J.M.; BATISTA, L.M. Review of the plants with anti-inflammatory activity studied in Brazil. **Rev Bras Farmacogn.** v.15, p.381-391, 2005.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. Parte II/2º fascículo. São Paulo: Atheneu, 2000.

FARIAS, E.M.F.G. et al. Avaliação da toxicidade aguda do extrato metanólico de folhas de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) In. CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 2007, Natal, RN. **Anais...** Natal: Sociedade Brasileira de Química. 2007.

FAVIER, A. Les oligoéléments en nutrition humaine. In: CHAPPUIS, P. (Ed) **Les Oligoéléments en Medicine et Biologic**. Paris: Editions Médicales Internationales, 1991. Cap. 3, p. 41-74.

FAZOLIN, M. et al. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC., *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 1, p. 113-120, 2007.

FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. 2 ed. Zaragoza: Acribia, 2000.

FERREIRA, R. **Contribuição ao estudo clínico, epidemiológico e anátomo-patológico da difteria no estado do Rio de Janeiro**. [Dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro, RJ: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1990.

FERNANDES, A.T. **Atividade farmacológica dos extratos obtidos de *Plathymenia reticulata* Benth (Leguminosae)**. 2002. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

FERNANDES, T.T.; SANTOS, A.T.F.; PIMENTA, F.C. Atividade antimicrobiana das plantas *Plathymenia reticulata*, *Hymenaea courbaril* e *Guazuma ulmifolia*. **Revista de patologia tropical**, v.34, n.2, p.113-122, 2005.

FERNANDES JÚNIOR, A.; BALESTRIN, E. C.; BETONI, J. E. C.; ORSI, R. O.; CUNHA, M. L. R. S.; MONTELLI, A. C. Propolis: anti-*Staphylococcus aureus* activity and synergism with antimicrobial drugs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.**, v. 100, p. 563-566, 2005.

FERRERES, F.; SOUSA, C.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; GIL-IZQUIERDO, A. New C-deoxyhexosyl flavones and antioxidant properties of *Passiflora edulis* leaf extract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.25, p.10187-10193, 2007.

FIGUEIREDO, P. S. F.; OLIVEIRA, R. F.; SILVA, J. G.; ALCANFOR, S. K.B.; ROMEIRO, L. A.S. Avaliação do perfil antioxidante da quercetina e quercetina – Cu (II) e sua relação com logP. In: 29. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA; 2006; Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Química; 2006.

FIRMO, W.C.A.; MIRANDA, M.V.; COUTINHO, G.S.L.; SILVEIRA, L.M.S.; OLEA, R.S.G. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade antibacteriana de *Lafoensia pacari* (Lythraceae). **Publ. UEPG Ci. Biol. Saúde**, v.20, n.1, p.7-12, 2014.

FIRMO, W.C.A.; MIRANDA, M.V.; COUTINHO, G.S.L.; BARBOZA, J.R.; PEREIRA, L.P.L.A.; OLEA, R.S.G. Determinação de compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante de *Lafoensia pacari* (Lythraceae). **Rev. Eletr. Farm.** v.1, n.1, p.1-10, 2015.

FIRMO, W.C.A.; MIRANDA, M.V.; OLEA, R.S.G. Caracterização do “estado da arte” de *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. (Lythraceae). **Natureza on line**, v.14, n.1, p.012-022, 2016.

FOGG, G.C.; CAPARON, M.G. Constitutive expression of fibronectin binding in *Streptococcus pyogenes* as a result of anaerobic activation of rofA. **J Bacteriol.** v.179, p.6172-6180, 1997.

FONTE, N.N.; CAVALET, V.J.; BIASI, L.A. A complexidade do trabalho com plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.7, n.1, p.16-22, 2004.

FONTES, M. E. **Toxicologia**. Lisboa: Seção de Farmacologia e Toxicologia, 2001.

FORMIGA, L.C.D. **Corynebacterium**. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N (eds). Microbiologia. Rio de Janeiro: Atheneu, 1999; 177-185.

- FORMIGA, L.C.D; MATTOS-GUARALDI, A.L. Diphtheriae: current status and laboratory procedures for diagnosis. **Rev. Bras. Pat. Clin.**, v. 29, p. 93-96, 1993.
- FRANÇA, I.S.X. et al. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, n. 2, p. 201-208, 2008.
- FRANCO, G. **Tabela de Composição de Alimentos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1999.
- FREITAS, N.M.; SANTOS, A.M.C.M.; MOREIRA, L.R.M.O. Avaliação fitoquímica e determinação de minerais em amostras de *Hibiscus sabdariffa* L. (vinagreira). **Cad. Pesq.**, v.20, n.3, p.1-8, 2013.
- FREITAS, A. L. D.; KAPLUM, V. ROSSI, D. C. P.; SILVA, L. B. R.; MELHEM, M. S. C.; TABORDA, C. P.; MELLO, J. C. P.; NAKAMURA, C. V.; ISHIDA, K. Proanthocyanidin polymeric tannins from *Stryphnodendron adstringens* are effective against fluconazole-resistant *Candida* spp. and treat vaginal candidiasis. **Journal of Ethnopharmacology**, 2018.
- FREIRE, J. M.; ABREU, C. M. P.; CORRÊA, A. D.; SIMÃO, A. A.; SANTOS, C. M. Avaliação de compostos funcionais e atividade antioxidante em farinhas de polpa de goiabas. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 34, n. 3, p. 847-852, 2012.
- FUNKE, G.; BERNARD, K.A. **Coryneform Gram-positive rods**. In: MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; JORGENSEN, J.A.; LANDRY, M.L.; PFALLER, M.A. (eds). **Manual of Clinical Microbiology**. Washington DC: American Society for Microbiology Press, 485-514, 2007.
- FUNKE, G.; VON GRAEVENITZ, A.; CLARRIDGE, J.E.; BERNARD, K.A. Clinical microbiology of coryneform bacteria. **Clin Microbiol Rev.** v. 10, p. 125-159, 1997.
- FUX, C.A.; COSTERTON, J.W.; STEWART, P.S.; STOODLEY, P. Survival strategies of infectious biofilms. **Trends in Microbiology**. v. 13, p. 34-40, 2005.
- GALAZKA, A. The changing epidemiology of diphtheria in the vaccine era. **J Infect Dis.** v. 181(suppl 1), p. S2-S9, 2000.
- GALAZKA, A.M.; ROBERTSON, S.E. Diphtheria: changing patterns in the developing world and the industrialized world. **Eur J Epidemiol.** v. 11, p. 107-117, 1995.
- GAJANAN, M. Antibacterial Activity Of *Azadirachta indica* A. Juss. Leaves Extracts Against Skin Pathogens. **International Journal of Recent Trends in Science And Technology**, v. 2, n. 3, p. 33-35, 2012.
- GALDINO, P.M.; NASCIMENTO, M.V.M.; SAMPAIO, B.L.; FERREIRA, R.N.; PAULA, J.R.; COSTA, E.A. Antidepressant-like effect of *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. ethanolic extract and fractions in mice. **J. Ethnopharmacol.** v.124, p.581-585, 2009.
- GANGWAR, M.; GAUTAM, M.K.; SHARMA, A.K.; TRIPATHI, Y.B.; GOEL, R.K.; NATH, G. Antioxidant Capacity and Radical Scavenging Effect of Polyphenol Rich *Mallotus philippinensis* Fruit Extract on Human Erythrocytes: An *In Vitro* Study. **The Scientific World Journal.**, v.279451, p.1-12, 2014.

- GARLET, T.M. B.; SANTOS, O.S. Solução nutritiva e composição mineral de três espécies de menta cultivadas no sistema hidropônico. **Ciência Rural**, v.38, n.5, p.1233-1239, 2008.
- GATSING, D.; MBAH, J. A.; GARBA, I. H.; TANE, P.; DJEMGOU, P.; NJI-NKAH, B. F. An antisalmonellal agent from the leaves of *Glossocalyx brevipes* Benth (Monimiaceae). **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 9, n. 1, p. 84-87, 2006.
- GILBERT, R.; STEWART, F.C. *Corynebacterium ulcerans*: a pathogenic microorganism resembling *C. diphtheriae*. **J. Lab. Clin. Med.**, v.12, p.756-761, 1926.
- GOBBO NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quím. Nova**, v.30, n.2, p.374-3381, 2007.
- GOBOO NETO, L. et al. Glycosides, caffeoylquinic acids and flavonoids from the polar extract of leaves of *Lychnophora ericoides* Mart. (Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.36, p.473-465, 2008.
- GOLAZ, A. et al. Epidemic diphtheria in the newly independent states of the former Soviet Union: implications for diphtheria control in the United States. **J. Infect. Dis.**, v. 181, p.237-243, 2000.
- GOMES, C.S. et al. Efeito do extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização da parede abdominal de ratos: estudo morfológico e tensiométrico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.21, n.2, p.09-16, 2006.
- GOMES, D. L .R.; MARTINS, C. A. S.; FARIA, L. M. D.; SANTOS, L. S.; SANTOS, C. S.; SABBADINI, P. S.; SOUZA, M. C.; ALVES, G. B.; ROSA, A. C. P.; NAGAO, P. E.; PEREIRA, G. A.; HIRATA JR., R.; MATTOS-GUARALDI, A. L. *Corynebacterium diphtheriae* as an emerging pathogen in nephrostomy catheter-related infection: evaluation of traits associated with bacterial virulence. **Journal of Medical Microbiology**. v. 58, p. 1419-1427, 2009.
- GOMES, D.L.R. et al. SubMICs of penicillin and erythromycin enhance biofilm formation and hydrophobicity of *Corynebacterium diphthriae* strains. **J Med Microbiol**. v.62, p.754-60, 2013.
- GOMPELMANN, D. et al. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* causing severe pneumonia in secondary immunoglobulin deficiency. **Dtsch Med Wochenschr**. v.136, p. 2503-6, 2011.
- GONÇALVES, A.R. et al. Citotoxicidade de plantas com indicativo etnográfico para a desinfecção de água. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.11, n.3, p.305-309, 2009.
- GONÇALVES, A.L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arq. Inst. Biol.**, v.72, n.3, p.353-358, 2005.
- GONDIM, J.A.M. et al. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.25, n.4, p.825-827, 2005.

GONZÁLEZ-LAMOTHE, R. et al. Plant antimicrobial agents and their effects on plant and human pathogens. **International Journal of Molecular Sciences**, v.10, n.8, p. 3400-19, 2009.

GOSMANN, G. et al. Composição química e aspectos farmacológicos de espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae). **R. Bras. Bioci.**, v.9, n.1, p.88-99, 2011.

GRANDIS, R.A. et al. Avaliação da atividade antibacteriana do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims). **Rev. Ciên. Farm. Básica Apl.**, v.36, n.1, p.77-82, 2015.

GUARATINI, T.; MEDEIROS, M.H.G.; COLEPICOLO, P. Antioxidantes na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: uso e avaliação de sua eficácia. **Quím. Nova**, v.30, n.1, p.206-213, 2007.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday. **Molecular Aspect of Medicine**, n. 27, p. 1-93, 2006.

GURUVAYOORAPPAN, C.; KUTTAN, G. Rutin inhibits nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha production in lipopolysaccharide and concanavalin-a stimulated macrophages. **Drug Metabolism and Drug Interactions**, v. 22, n. 4, p. 263-278, 2007.

GURGEL, T.C.; CARVALHO, W.S. A assistência farmacêutica e o aumento da resistência bacteriana aos antimicrobianos. **Lat Am J Pharm.** v.27, n.1, p.118-23, 2008.

GUTIÉRREZ-RODERO, F., et al. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*: an easily missed respiratory pathogen in HIV-infected patients. **Diagn Microbiol Infect Dis.** v.33, p. 209-16, 1999.

GUPTA, K.; HAZARIKA, S. N.; SAIKIA, D.; NAMSA, N. D.; MANDAL, M. One step green synthesis and anti-microbial and anti-biofilm properties of *Psidium guajava* L. leaf extract-mediated silver nanoparticles. **Materials Letters**, v.125, p.67-70, 2014.

G1-PE. Difteria já atingiu 4 pessoas em PE em 2015 e mais 3 são monitoradas. Portal Globo, G1-Pernambuco. 2015. Disponível em: <<http://g1.globo.com/pernambuco/noticia/2015/09/difteria-ja-atingiu-4-pessoas-em-pe-em-2015-e-mais-3-sao-monitoradas.html>>. Acesso em: 30 ago 2016.

HADFIELD, T.L. et al. The pathology of diphtheria. **J. Infect. Dis.**, v.181, p.S116–120, 2000.

HAIDA, K.S. et al. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. **Arq. Cienc. Saude Unipar**, v. 11, p. 185-192, 2007.

HAIDA, K.S. et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de goiaba (*Psidium guajava* L.) fresca e congelada. **Revista Fitos**, v.9, n.1, p.1-72, 2015.

HALL, A.J. et al. Novel *Corynebacterium diphtheriae* in domestic cats. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 16, p.688-689, 2010.

HANSMEIER, N.; CHÃO, T.C.; KALINOWSKI, J.; PÜHLER, A.; TAUCH, A. Mapping and comprehensive analysis of the extracellular and cell surface proteome of the human pathogen *Corynebacterium diphtheria*. **Proteomics**. v.6, n.8, p.2465-76, 2006.

HART, R.J.C. *Corynebacterium ulcerans* in humans and cattle in North Devon. **J. of Hyg.**, v. 92, p.161-164, 1984.

HATANAKA, A. et al. *Corynebacterium ulcerans* Diphtheria in Japan. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 9, p. 752-753, 2003.

HASSON, S.S. et al. *In vitro* antibacterial activity of three medicinal plants – *Boswelli* (Luban) species. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. p.S178-S182, 2011.

HATANAKA, A. et al. *Corynebacterium ulcerans* Diphtheria in Japan. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 9, p. 752-753, 2003.

HEIM, K.E.; TAGLIAFERRO, A.R.; BOBILYA, D.J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism, and structure-activity relationships. Reviews: current topics. **J Nutr Biochem**, v.13, p.572-584, 2002.

HE, X. G. On line identification of phytochemical constituents in botanical extracts by combined high-performance liquid chromatographic-diode array detection-mass spectrometric techniques. **J. Chromatogr. A.**, n.880, p. 203-232, 2000.

HEMAISWARYA, S.; KRUTHIVENTI, A. K.; DOBLE, M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. **Phytomedicine**, v.15, n.8, p.639-652, 2008.

HIGGS, T.M.; SMITH, A.; CLEVERLY, L.M.; NEAVE, F.K. *Corynebacterium ulcerans* infections in a dairy herd. **Vet. Rec.**, v. 81, p.34-35, 1967.

HIRATA JÚNIOR R. et al. Patterns of adherence to HEp-2 cells and actin polymerization by toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* strains. **Microb Pathog**, v.36, p.125-30, 2004.

HIRATA JÚNIOR, R.; PEREIRA, G.A.; FILARDY, A.A.; GOMES, D.L.; DAMASCO, P.V.; ROSA, A.C.; NAGAO, P.E.; PIMENTA, F.P.; MATTOS-GUARALDI, A.L. Potential pathogenic role of aggregative-adhering *Corynebacterium diphtheriae* of different clonal groups in endocarditis. **Braz J Med Biol Res**. v. 41, p.986-991, 2008.

HOCAYEN, P. A. S.; CAMPOS, L. A.; POCHAPSKI, M. T.; MALFATTI, C. R. M. Avaliação da toxicidade do extrato bruto metanólico de *Baccharis dracunculifolia* por meio do bioensaio com *Artemia salina*. **INSULA Revista de Botânica**. n. 41, p. 23-31. 2012.

HOGG, R.A. et al. Possible zoonotic transmission of toxigenic *Corynebacterium ulcerans* from companion animals in a human case of fatal diphtheria. **Vet. Rec.**, v.165, p.691-692, 2009.

HOLMES, R.K. Biology and molecular epidemiology of diphtheria toxin and the tox gene. **J Infect Dis**. v.181, p.S156-S167, 2000.

HOMMEZ, J. et al. Identification of nonlipophilic corynebacteria isolated from dairy cows with mastitis. **J. Clin. Microbiol.**, v.37, p.954-957, 1999.

HONMA, Y.; YOSHII, Y.; WATANABE, Y.; AOKI, N.; KOMIYA, T.; IWAKI, M.; ARAI, H.; ARAKAWA, Y.; TAKAHASHI, M.; KIMURA, H. A case of afebrile pneumonia caused by non-toxicogenic *Corynebacterium diphtheriae*. **Jpn J Infect Dis.** v. 62, p. 327-329, 2009.

HOPIA, A; HEINONEM, M. Antioxidant activity of flavonol aglycones and their glycosides in methyl linoleate. **J. Am. Oil Society**, v. 76, p. 139-144, 1999.

HULLIN, V. et. al. Les propriétés anti-microbiennes des huiles essentielles et composés d'arômes. **Sciences des Aliments** v.18 p.563-582, 1998.

IHA, S. M.; MIGLIATO, K. F.; VELLOSA, J. C. R.; SACRAMENTO, L. V. S.; PIETRO, R. C. L. R.; ISAAC, V. L. B.; BRUNETTI, I. L.; CORRÊA, M. A.; SALGADO, H. R. N. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocósmética. *Revista Brasileira de Farmacognosia.* v. 18, n.3, p.387-393, 2008.

INDUMATHI, V.A.; SHIKHAA, R.; SURYAPRAKASH, D.R. Diphtheria-like illness in a fully immunized child caused by *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*. **Indian Journal of Microbiology Medical.** v.32, p. 443-445, 2014.

ISHII, J.B.; FREITAS, J.C.; ARIAS, M.V.B. Resistência de bactérias isoladas de cães e gatos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (2008-2009). **Pesq. Vet. Bras.**, v.31, n.6, p.533-537, 2011.

ISMAN, M.B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v.51, p.45-66, 2006.

JACQUES, M.; ROY, G.; MITTAL, K.R. Hemagglutinating properties of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Can J Microbiol**, v.34, p.1046-1049, 1998.

JANDÚ, J. J. B.; SILVA, L. C. N.; PEREIRA, A. P. C.; SOUZA, R. M.; SILVA JÚNIOR, C. A.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q.; ARAÚJO, J. M.; CORREIA, M. T. S.; SILVA, M. V. *Myracrodruon urundeuva* bark: an antimicrobial, antioxidant and non-cytotoxic agente. **Journal of Medicinal Plants Research.**, v. 7, n.8, p. 413-418, 2013.

JAYAPRAKASHA, G.K.; MANDADI, K.K.; POULOSE, S.M.; JADEGOUD, Y.; NAGANA GOWDA, G.A.; PATIL, B.S. Inhibition of colon cancer growth and antioxidant activity of bioactive compounds from *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. **Bioorg Med Chem**, v.15, p.4923-4932, 2007.

JUNQUEIRA, J. C. *Galleria mellonella* as a model host for human pathogens: recent studies and new perspectives. **Virulence.**, v.3, p.474-476, 2012.

KADIROVA, R.; KARTOGLU, Ü.; STREBEL, P.M. Clinical characteristics and management of 676 hospitalized diphtheria cases, Kyrgyz Republic, 1995. **J Infect Dis.** v. 181, p. S110-115, 2000.

KAMATH, V.; RAJINI, P. S. The efficacy of cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) skin extract as a free radical scavenger. **Food Chemistry**, v.103, p. 30-38, 2007.

KATSUKAWA, C. et al. Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* isolated from the domestic dog for the first time in Japan. **Jpn. J. Infect. Dis.**, v.62, p.171-172, 2009.

KEMP, M. et al., Demonstration by PCR and DNA sequencing of *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* as a cause of joint infection and isolation of the same organism from a surface swab specimen from the patient. **J Med Microbiol.** v.54, p.689-691, 2005.

KHAMIS, A.; RAOULT, D; SCOLA, L.B. Rpo B gene sequencing for identification for *Corynebacterium* species. **Am. Soc. Microbiol.**, v. 42, n. 9, p. 3925-31, 2004.

KHAN, N.; SHASTRI, J.; AIGAL, U.; DOCTOR, B. Resurgence of diphtheria in the vaccination era. **Indian J Med Microbiol.** v. 25, p. 434, 2007.

KIM, N. Y.; JANG, M. K.; LEE, D. G.; YU, K. H.; JANG, H.; KIM, M.; KIM, S. G.; YOO, B. H.; LEE, S. H. Comparison of methods for proanthocyanidin extraction from pine (*Pinus densiflora*) needles and biological activities of the extracts. **Nutr Res Pract.**, v.4, n.1, p.16-22, 2010.

KODAY, N.K. et al. Bactericidal activities of different medicinal plants extracts against ocular pathogen viz *Corynebacterium macginleyi*. **Drug Invention Today**, v.2, n.1, p.5-7, 2010.

KONAN, N. A.; BACCHI, E. M. Antiulcerogenic effect and acute toxicity of a hydroethanolic extract from the cashew (*Anacardium occidentale* L.) leaves. **Journal of Ethnopharmacology**.. v.112, p. 237-242, 2007.

KOO, H.; ROSALEN, P.L.; CURY, J.A.; AMBROSANO, G.M.; MURATA, R.M.; YATSUDA, R.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S.M.; PARK, Y.K. Effect of a new variety of *Apis mellifera* propolis on mutans Streptococci. **Curr Microbiol.** v. 41, p. 192-196, 2000.

KOUL, O.; ISMAN, M.B.; KETKAR, C.M. Properties and uses of neem, *Azadirachta indica*. **Canadian Journal of Botany**, v.68, n.1, p.1-11, 1990.

KOURY, J.C.; DONANGELO, C.M. Zinco, estresse oxidativo e atividade fisica. **Rev. Nutr.**, v.16, n.4, 2003.

KOSTYUKOVA, N.N.; KARAS, S.R. The adhesive activity of diphtheria strains. **Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol**, v.11, p. 24-27, 1991.

KOSTYUKOVA, N.N.; PEREVERZEV, N.A. Adhesion in *Corynebacterium diphtheriae*. **Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol**, v.11, p.30-33, 1985.

KUBO, I.; KINST-HORI, I.; YOKOKAWA, Y. Tyrosinase inhibitors from *Anacardium occidentale* fruits. **J Nat Prod**, v.57, p.545-551, 1994.

KUDI, A.C. et al. Screening of some Nigerian medicinal plants for antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v.67, p.225-228, 1999.

KUMAR, M. R.; AITHAL, K.; RAO, B. N.; UDUPA, N.; RAO, B. S. Cytotoxic, genotoxic and oxidative stress induced by 1,4-naphthoquinone in B16F1 melanoma tumor cells. **Toxicol in vitro**. v.23, n.2, p.242-250, 2009.

KNEEN, R.; PHAM, N. G.; SOLOMON, T.; TRAN, T. M.; NGUYEN, T. T.; TRAN, B. L. et al. Penicillin vs erythromycin in the treatment of diphtheria. **Clin Infect Dis**. v.27, n.4, p.845-850, 1998.

LACERDA, A. M.; MODOLO, A. K.; MATIAS, R. C.; PISTORI, H. YANO, M.; ROEL, A. R.; PORTO, K. R. A. *Screening* de plantas com potencial fitotóxico. **Rev. Bras. Farm.** v. 92, n.4, p.352-355, 2011.

LARTIGUE, M.F. et al. *Corynebacterium ulcerans* in an immunocompromised patient with diphtheria and her dog. **J. Clin. Microbiol.**, v.43, p.999-1001, 2005.

LAWRENCE, S.O.; SIMPSON-HAIDARIS, P.J. Regulated de novo biosynthesis of fibrinogen in extrahepatic epithelial cells in response to inflammation. **Thromb Haemost.** v.92, p.234-243, 2004.

LEAL, S.R.; LIMA, M.A.; SILVEIRA, E.R. Cassane diterpenes from *Plathymenia reticulata*. **J Bras Chem Soc**, v.14, p.120-125, 2003.

LEE, S. T.; STEGELMEIER, B. L.; GARDNER, D. R.; VOGEL, K. P. The isolation and identification of steroidal sapogenins in switchgrass. **Nat Toxins.**, v.10, p.273-281, 2001.

LEGGETT, B.A. et al. Toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* isolated from a wound in a horse. **Vet. Rec.**, v.166, p.656-657, 2010.

LEANDRO, L.M.G. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e modulatória de extratos metanólico e hexânico das casca de *Sideroxylon obtusifolium*. **e-ciência**, v.1, n.1, 2013.

LEITE, J.P.V. Química dos produtos naturais: Uma abordagem Biossintética. In: Leite, J.P.V. **Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas**. 1. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2009, 328p.

LEMOS, A.R. et al. Atividade antioxidante e correlação com fenólicos totais em genótipos de Urucum (*Bixa orellana* L.). **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.70, n.1, p.62-68, 2011.

LÉVÊQUE, C. **A biodiversidade**. Bauru: Ed. da Universidade Sagrado Coração, 1999.

LHULLIER, C.; HORTA, P.A.; FALKENBERG, M. Avaliação de extratos de macroalgas bênticas do litoral catarinense utilizando o teste de letalidade para *Artemia salina*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.16, n.2, p.158-163, 2006.

LIMA, A.K.; AMORIM, E.L.C. Estudo químico de plantas do nordeste brasileiro visando à obtenção de produtos naturais de potencial atividade biológica. In: **VI Congresso de Iniciação Científica da UFPE**, 1998, Recife. Anais eletrônicos. Recife:UFPE, 1998.

LIMA NETO, G.A. et al. Quantificação de metabólitos secundários e avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de algumas plantas selecionadas do Cerrado de Mato Grosso. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.17, n.4, p.1069-1077, 2015.

LIMA, A. R.; PEREIRA, R. G. F. A.; ABRAHÃO, S. A.; DUARTE, S. M. S.; PAULA, F. B. A. compostos bioativos do café: atividade antioxidante *in vitro* do café verde e torrado antes e após a descafeinação. **Quim. Nova**, v. 33, N. 1, p.20-24, 2010.

LIMA, C. M. P.; SOARES, R. P. F.; BASTOS, I. V. G. A.; GRANGEIRO, A. R. S.; GURGEL, A. P. A. D.; SILVA, A. C. P.; SILVA, J. G.; OLIVEIRA, R. A. G.; SOUZA, I. A. Avaliação da toxicidade aguda do extrato das cascas de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.16, n.4, p.832-838, 2014.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; CARVALHO, S. M.; RODRIGUES, V. G.; GUIMARÃES, L. G. L. Chemical composition and fumigant effect of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and monoterpenes against *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Ciênc. agrotec.**, v. 35, n. 4, p. 664-671, 2011.

LOGUERCIO, A.P. et al. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, v.35, n.2, p.371-376, 2005.

LOPES, C.R. et al. **Folhas de chá**. Viçosa: UFV, 2005.

LOPES, G.C. et al. Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. and *Stryphnodendron obovatum* Benth. on the cicatrisation of cutaneous wounds in rats. **J. Ethnopharmacol.** v.99, p.265-72, 2005.

LOPES, R.M.F.; FREITAS, V.L.O.; LEMOS FILHO, J.P. Biometria de frutos e sementes e germinação de *Plathymenia reticulata* Benth. e *Plathymenia foliolosa* Benth. (Fabaceae-Mimosoideae). **Revista Árvore**, v.34, n.5, p.797-805, 2010.

LOPES, G. C.; SANCHES, A. C. C.; TOLEDO, C. E. M.; ISLER, A. C.; MELLO, J. C. P. Determinação quantitativa de taninos em três espécies de *Stryphnodendron* por cromatografia líquida de alta eficiência. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.**, v. 45, n.1, p. 135-143, 2009.

LOURENÇO, J.N.P. et al. Estudos preliminares sobre a propagação vegetativa de *Tithonia diversifolia*. **IX Congresso Brasileiro de Agroecologia**. Belém, PA, Resumos.

LUO, X.D.; WU, S.H.; MA, Y.B.; WU, U, D.G. A new triterpenoid from *Azadirachta indica*. **Fitoterapia**, v.71, p.668-672, 2000.

LU, Y.; FOO, L. Y. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. **Food Chemistry**, v. 68, p. 81-85, 2000.

LUIZ, R. L.; VILA, T.V.; MELLO, J.C.; NAKAMURA, C.V.; ROZENTAL, S.; ISHIDA, K. Proanthocyanidins polymeric tannin from *Stryphnodendron adstringens* are active against *Candida albicans* biofilms. **BMC Complement. Altern. Med.** v.15, p.68, 2015.

LUNA, J.S. et al. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**. p. 199-206, 2005.

MABBERLEY, D.J. **The Plant-book: a portable dictionary of the vascular plants**. 2.ed., Cambridge University Press, Cambridge, 1997, p.689.

MACAMBIRA, R. P.; FORMIGA, L. B.; FORMIGA, L. C. D. Difteria: o grave prognóstico brasileiro. **J Bras Med.**, v.66, n.3, p.69-81, 1994.

MACEDO, F. M. M.; MARTINS, G. T.; MENDES, C. S. O.; SILVA, C. M.; RODRIGUES, C. G.; OLIVEIRA, D. A. Determinação de Compostos Fenólicos Totais em Barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart) Coville]. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 1164-1165, 2007.

MACIEL, M.A.M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MACGREGOR, R.R.C. *Corynebacterium diphtheriae*. In: MANDRELL, D.L.; DOUGLAS, R.G.; BENNETT, J.E. (eds.) *Enfermidades Infecciosas. Princípios y Practica II*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Medica Panam., 1990.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo, Piracicaba: Editora Agronômica Ceres Ltda., 2006.

MAH, T. F.; O'TOOLE, G. A. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. **Trends Microbiol.** v.9, n.1, p.34-39, 2001.

MAN, P.; MONTAGNER, C.; VITRAC, H.; KAVAN, D.; PICHARD, S.; GILLET, D.; FOREST, E.; FORGE, V. Accessibility changes within diphtheria toxin T domain when in the functional molten globule state, as determined using hydrogen/deuterium exchange measurements. **FEBS J.** v. 277, p. 653-662, 2010.

MANZELLA, J.P; KELLOGG, J.A; PARSEY, K.S. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*: a respiratory tract pathogen in adults. **Clin Infect Dis.** v.20, p.37-40, 1995.

MARCO, M. P.; PASCUAL, N.; BELLES, X.; CAMPS, F.; MESSEGUER, A. Ecdysteroid depletion by azadirachtin in *Tenebrio molitor* pupae. **Pest. Biochem. Physiol.** v.38, p.60-65, 1990.

MARENDA, F. R. B. **Citotoxicidade de pectinas do albedo de maracujá (*Passiflora edulis flavicarpa*) em linhagens tumorais**. 2015. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2015.

MARLOVITS, S.; STOCKER, R.; EFSTRATIOU, A.; BROUGHTON, K.; KAIDER, A.; VECSEI, V.; WIEDERMANN, G.; KOLLRISTSCH, H. Seroprevalence of diphtheria immunity among injured adults in Austria. **Vaccine.** v. 19, p. 1061-1067, 2000.

MARTINEZ, J.L.; FAJARDO, A.; GARMENDIA, L.; HERNANDEZ, A.; LINARES, J.F.; MARTÍNEZ-SOLANO, L.; SÁNCHEZ, M.B. A global view of antibiotic resistance. **FEMS Microbiol. Rev.** v.33, p.44-65, 2009.

MARTINEZ-MARTINEZ, L.; ORTEGA, M.C.; SUAREZ, A.I. Comparison of E-test with broth microdilution and disk diffusion for susceptibility testing of coryneform bacteria. **J Clin Microbiol.** v.33, n.5, p.1318-21, 1995.

MARTINEZ-MARTINEZ, L.; SUAREZ, A. I.; ORTEGA, M. C.; PEREA, E. J. Comparative in vitro activities of new quinolones against coryneform bacteria. **Antimicrob Agents Chemother.** v.38, n.6, p.1439-1441, 1994.

MATHEIL, C.; VAN DAMME, P.; BRUYNESEELS, P.; GOOSSENS, H.; VRANCKX, R.; MEHEUS, A. Diphtheria immunity in Flanders. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.** v. 16, p. 631-636, 1997.

MATOS, F.J.A. **O formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha:** informações sobre o emprego na medicina caseira, de plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. Fortaleza: EUFC, 2. ed. 1997.

MATTOS-GUARALDI, A.L.; FORMIGA, L.C.D.; PEREIRA, G.A. Cell surface components and adhesion in *Corynebacterium diphtheriae*. **Microbes Infect,** v.2, p.1507-1512, 2000.

MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental.** 3ª ed. Fortaleza: Editora da UFC; 2009.

MATTOS-GUARALDI, A.L.; FORMIGA, L.C.D. Relationship of biotype and source to the hemagglutination and adhesive properties of *Corynebacterium diphtheriae*. **Braz J Med Biol Res,** v.24, p.399-406, 1991.

MATTOS-GUARALDI, A.L.; FORMIGA, L.C.D. Bacteriological properties of a sucrose fermenting *Corynebacterium diphtheriae* strain isolated from a case of endocarditis. **Curr Microbiol,** v.37, p.156-158, 1998.

MATTOS-GUARALDI, A.L. et al. First detection of *Corynebacterium ulcerans* producing diphtheria-like toxin in human with pulmonary infection in Rio De Janeiro metropolitan area, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz,** v.103, p.396-400, 2008.

MATTOS-GUARALDI, A.L.; DAMASCO, P.V.; GOMES, D.L.; MELENDEZ, M.G.; SANTOS, L.S.; MARINELLI, R.S.; NAPOLEÃO, F.; SABBADINI, P.S.; SANTOS, C.S.; MOREIRA, L.O.; HIRATA JÚNIOR, R. Concurrent diphtheria and infectious mononucleosis: difficulties for management, investigation and control of diphtheria in developing countries. **J Med Microbiol.** v. 60, p. 1685-8, 2011.

MATTOS-GUARALDI, A.L.; FORMIGA, L.C.D. *Corynebacterium diphtheriae* e difteróides: ensaios de aderência. **Rev Bras Pat Clin.** v. 27, p. 53-60, 1991.

MATTOS-GUARALDI, A.L.; FORMIGA, L.C.D. Bacteriological properties of a sucrose fermenting *Corynebacterium diphtheriae* strain isolated from a case of endocarditis. **Curr Microbiol.** v. 37, p. 156-158, 1998.

MATTOS-GUARALDI, A.L.; FORMIGA, L.C.D.; MARQUES, E.A.; PEREIRA, G.A.; MOREIRA, L.O.; PIMENTA, F.P.; CAMELLO, T.C.F.; OLIVEIRA, E.F. Diphtheria in a vaccinated adult in Rio de Janeiro, Brazil. **Braz J Microbiol.** v. 32, p. 236-239, 2001.

- MATTOS-GUARALDI, A.L.; HIRATA JÚNIOR, R.; DAMASCO, P.V. Difteria no Brasil e no Mundo: Aspectos sobre o cenário atual. **Revista Imunizações**. Supl. 1, p. S2-20, 2011.
- MATTOS-GUARALDI, A. L.; CAPPELLI, E. A.; PREVIATO, J. O.; FORMIGA, L. C. D.; ANDRADE, A. F. B. Characterization of surface saccharides in two *Corynebacterium diphtheriae* strains. **FEMS Microbiol Lett**. n. 170. p. 159–166, 1999.
- MELKER, H.E.; BERBERS, G.A.M.; NAGELKERKE, N.J.D.; CONYN-VAN SAPENDONCK, M.A.E. Diphtheria antitoxin levels in the Netherlands: a population-based study. **Emerg Infect Dis**. v. 5, p. 694-700, 1999.
- MELO, P. S.; BERGAMASCHI, K. B.; TIVERON, A. P.; MASSARIOLI, A. P.; OLDONI, T. L. C.; ZANUS, M. C.; PEREIRA, G. E.; ALENCAR, S. M. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciência Rural**, v.41, n.6, p.1088-1093, 2011.
- MELLO, M. O.; SILVA-FILHO, M. C. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanism. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 14, p. 71-81, 2002.
- MENOZZI, F.D. et al. Surface-associated filamentous hemagglutinin induces autoagglutination of *Bordetella pertussis*. **Infect Immun**. v.62, p.4261-4269, 1994.
- MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 45, p.31-34,1982.
- MIN, B.; MCCLUNG, A. M.; CHEN, M. H.; Phytochemicals and antioxidant capacities in rice brans of different color. **Journal of Food Science**, v. 76, p. 117-126, 2011.
- MINA, N. V.; TAMARA, B.; WIEBE, D.; RAI, J. S.; RAHIM, T.; SHING, F.; et al. Canada's first case of a multidrug-resistant *Corynebacterium diphtheriae* strain, isolated from a skin abscess. **J Clin Microbiol**. v.49, n.11, p.4003-4005, 2011.
- MIRANDA, J. A. L.; ROCHA, J. A.; ARAÚJO, K. M.; QUELEMES, P. V.; MAYO, S.J.; ANDRADE, I. M. Atividade antibacteriana de extratos de folhas de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Araceae). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 17, n.4, p.1142-1149, 2015.
- MIRANDA, C. A. S. F.; CARDOSO, M. G.; BATISTA, L. R.; RODRIGUES, L. M. A.; FIGUEIREDO, A. C. D. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 1, p. 213-220, 2016.
- MONTEIRO, J. M. M. et al. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.
- MORENO, S.; SCHEYER, T.; ROMANO, C.S.; VOJNOV, A.A. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. **Free Radical Research**, v.40, p.223-231, 2006.

MORAIS, S.M. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.19, n.1B, p.315-320, 2009.

MORAIS, S.M.; DANTAS, J.D.P.; SILVA, A.R.A.; MAGALHÃES, E.F. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. **Rev Bras Farmacogn**, v.15, p.169-177, 2005.

MORAES, F.P.; SILVA, E. S.; ROCHA, P. M.; FERNANDES, T. R. N.; VIDAL, R. H. L.; CORREIA, R. T. P. Impacto da secagem convectiva sobre os compostos bioativos e atividade antioxidante do resíduo de caju (*Anacardium occidentale L.*). In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 2014, Florianópolis. **Anais**. Florianópolis: COBEQ, 2014. p.1-8

MOREIRA, L.O.; MATTOS-GUARALDI, A.L.; ANDRADE, A.F.B. Novel lipoarabinomannan-like lipoglycan (CdiLAM) contributes to the adherence of *Corynebacterium diphtheriae* to epithelial cells. **Arch Microbiol**. v.190, n.5, p.521-530, 2008.

MORRIS, W.E.; UZAL, F.A.; CIPOLLA, A.L. Pyogranulomatous meningoencephalitis in a goat due to *Corynebacterium ulcerans*. **Vet. Rec.**, v. 56, p.317-318, 2005.

MOSSINI, S.A.G.; KEMMELMEIER, C. A árvore nim (*Azadirachta indica A. Juss*): múltiplos usos. **Acta Farm. Bonaerense**, v.24, n.1, p.139-148, 2005.

MOTA, K.S.L. et al. Evaluation of the toxicity and antiulcerogenic activity of the ethanol extract of *Maytenus obtusifolia* Mart. leaves. **Rev Bras Farmacogn**, v.18, n.3, p.441-446, 2008.

MOTERIYA, P.; DALSANIYA, A.; CHANDA, S. Antioxidant and antimicrobial activity of a mangrove plant *Avicennia marina* (Forrsk). **Journal of Coastal Life Medicine**, v.3, n.9, p.930-934, 2015.

MORTIMER, E.A.; WHARTON, M. Diphtheria toxoid. In: PLOTKIN, S.A.; ORENSTEIN, W.A. **Vaccines**. WB Saunders Company, Philadelphia, 1999. p. 104-157.

MOURA, L.C. et al. Multiplicação e alongamento *in vitro* de vinhático (*Plathymenia reticulata*). **Sci. For.**, v.40, n.96, p.499-505, 2012.

MUNDO, S.R.; DUARTE, M.R. Morfoanatomia foliar e caulinar de dedaleiro: *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. (Lythraceae). **Lat. Am. J. Pharm**, v.26, n.4, p.522-529, 2007.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **J. Chromatogr. A**, v.29, p.95-111, 2004.

NAKAMURA, L.T.; WISNIESKI, B.J. Characterization of the deoxyribonuclease activity of diphtheria toxin. **J Biol Chem**. v.265, n.9, p.5237-41, 1990.

NAIDOO, R.; PATEL, M.; GULUBE, Z.; FENYVESI, I. Inhibitory activity of *Dodonaea viscosa* var. *angustifolia* extract against *Streptococcus mutans* and its biofilm. **Journal of Ethnopharmacology**., v. 144, p.171-174, 2012.

NANDAM, L.S.; PRASAD, H.K.R.; KANDRU, A. Bio prospecting Mokkathotakalli leaves of *Piper betel* L. Cv. Kapoori as a potential source of anti microbial agents against selected bacterial strains. **IJSR**. V.2, n.1, p.576-580, 2013.

NASCIMENTO, G.G.F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P.C.; SILVA, G.L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, n.4, p. 247-256, 2000.

NASCIMENTO, R.J.; ARAÚJO, C.R.; MELO, E.A. Atividade antioxidante de extratos de resíduo agroindustrial de goiaba (*Psidium guajava* L.). **Alim. Nutr.**, v.21, n.2, p.209-216, 2010.

NASCIMENTO, G.F. et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Revista Brasileira de Microbiologia**. v. 31, p. 48-53, 2000.

NASCIMENTO, J. C.; LAGE, L. F. O.; CAMARGOS, C. R. D.; AMARAL, J. C.; COSTA, L. M.; SOUSA, A. N.; OLIVEIRA, F. Q. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. **Rev. Bras. Farm.** v.92, n.4, p.327-332, 2011.

NAUTIYAL, C.S.; CHAUHAN, P.S.; NENE, Y.L. Medicinal smoke reduces airborne bacteria. **Journal of Ethnopharmacology**., v.114, p.446-451, 2007.

NAZ, S. et al. *In vitro* antibacterial activity of the extracts derived from *Terminalia catappa*. **Res. J. Microbiol.**, v.2, n.2, p.180-184, 2007.

NCCLS. National Committee for clinical Laboratory Standards (NCCLS). **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**. Approved standard-8.ed. NCCLS document M2-A8. Wayne, PA, 2003.

NETTO, A. G. et al. **Goiabada para exportação**: procedimentos de colheita e pós-colheita. Brasília, DF: EMBRAPA – SPI, 1996. 35p. (Publicações Técnicas FRUPEX 20).

NEVES, J.M. Atividade antioxidante e avaliação *in vitro* da citotoxicidade de extractos aquosos de folhas de mentha x piperita. **Revista da Faculdade de Ciências da Saúde**. v.6, p.344-354, 2009.

NEVES, L.C.; ALENCAR, S.M.; CARPES, S.T. Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em amostras de pólen apícola de *Apis mellifera*. **Braz. J. Food. Technol.**, p.107-110, 2009.

NOUMI, E.; SNOUSSI, M. MERGHNI, A.; NAZZARO, F.; QUINDÓS, G.; AKDAMAR, G.; MASTOURI, M.; AL-SIENI, A.; CEYLAN, O. Phytochemical composition, anti-biofilm and anti-quorum sensing potential of fruit, stem and leaves of *Salvadora persica* L. methanolic extracts. **Microbial Pathogenesis**., v.109, p. 169-176, 2017.

NOUMEDEM, J.A et al. Phytochemical analysis, antimicrobial and radical-scavenging properties of *Acalypha manniana* leaves. **Springerplus**. v. 3, p. 503, 2013.

NUREKI, S. et al. *Corynebacterium ulcerans* infection of the lung mimicking the

histology of Churg-Strauss syndrome. **Chest.**, v. 131, p.1237-1239, 2007.

OBAFEMI, C.A. et al. Antimicrobial activity of solvent extracts of *Terminalia catappa* Linn leaves. **Ife Journal of Science**, v.8, n.1, p.29-33, 2006.

OKEKE, M.I et al. Evaluation of extracts of the root of *Landolphia owerrience* for antibacterial activity. **Journal Ethnopharmacol**, v.78, p.119–127, 2001.

OLIVEIRA, A.M.G.C. **Avaliação da atividade antimalárica e citotóxica de plantas medicinais dos Biomas Caatinga e Amazônico**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas).Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN.

OLIVEIRA, C.J.; ARAÚJO, T.L. Plantas medicinais: usos e crenças de idosos portadores de hipertensão arterial. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 9, n. 1, p. 93- 105, 2007.

OLIVEIRA, A. M. G. C. **Avaliação da atividade antimalárica e citotóxica de plantas medicinais dos Biomas Caatinga e Amazônico**. 2011. 114f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Univesidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

OLIVEIRA, D. R.; COSTA, A. L. M. A.; LEITÃO, G. G.; CASTRO, N. G.; SANTOS, J. P. S.; LEITÃO, S. G. Estudo etnofarmacognóstico da saracuramirá (*Ampelozizyphus amazonicus* Ducke), uma planta medicinal usada por comunidades quilombolas do Município de Oriximiná-PA, Brasil. **Acta Amazônica.**, v. 41, n. 3, p. 383-392, 2011.

OLSON, M. E.; CERI, H.; MORCK, D. W.; BURET, A. G.; READ, R. R. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. **Can J Vet Res.** v.66, n.2, p.86-92, 2002.

OTT, L. et al. *Corynebacterium diphtheriae* invasion-associated protein (DIP1281) is involved in cell surface organization, adhesion and internalization in epithelial cells. **BMC Microbiol.** v.10, n.2, p.1-9, 2010.

OWOYELE, V.B. et al. Studies on the anti-inflammatory and analgesic properties of *Tithonia diversifolia* leaf extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v.90, p.317-321, 2004.

PADALIA, H.; TRIVEDI, A.; CHANDA, S. Antimicrobial activity of some medicinal plant extracts and its synergistic interaction with some antibiotics. **Journal of Pharmacy Research**, v.10, n.5, p.211-220, 2016.

PARK, S. Y.; KIM, K. M.; LEE, J. H.; SEO, S. J.; LEE, I. H. Extracellular gelatinase of *Enterococcus faecalis* destroys a defense system in insect hemolymph and human serum. **Infect Immun.**, v.75, p.1861-1869, 2007.

PASCUAL, N.; MARCO, M. P.; BELLÉS, X. Azadirachtin induced imaginal moult deficiencies in *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Stored Products Research.**, v.26, n. 1, p. 53-57, 1990.

PAPPENHEIMER, A.M. The story of a toxic protein, 1888-1992. **Protein Sci.** v. 2, p. 292-298, 1993.

PATEY, O.; BIMET, F.; EMOND, J. P.; ESTRANGIN, E.; RIEGEL, P. H.; HALIOUA, B. et al. Antibiotic susceptibilities of 38 non-toxinogenic strains of *Corynebacterium diphtheria*. **J Antimicrob Chemother.**, v.36, n.6, p.1108-1110, 1995.

PAVIANI, V. **Efeito do extrato de *Azadirachta indica* (nim) sobre resposta de hipersensibilidade mediada por ácido salicílico em células de *Rubus fruticosus***. 2010. 122f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

PHALKEY, R.K.; BHOSALE, R.V.; JOSHI, A.P.; WAKCHOURE, S.S.; TAMBE, M.P.; AWATE, P.; MARX, M. Preventing the preventable through effective surveillance: the case of diphtheria in a rural district of Maharashtra, India. **BMC Public Health**. v. 13, p. 317-337, 2013.

PEDRO, F.G.G. et al. Composição centesimal e mineral de plantas medicinais comercializadas no mercado do Porto de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Rev. Bras. Plantas Med.**, v.18, p.297-306, 2016.

PEIXOTO SOBRINHO, T.J.S. et al., Phenolic content and antioxidant capacity of our *Cnidioscolus* species (Euphorbiaceae) used as ethnopharmacologicals in Caatinga. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.5 p.2310-2316, 2011.

PESSINI, G.L. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.13, p.21-24, 2003.

PEREIRA, A.V. et al. Taninos da casca do cajueiro: atividade antimicrobiana. **Revista Agrotec**, v.36, n.1, p.121-127, 2015.

PEREIRA, G. A.; PIMENTA, F. P.; SANTOS, F. R. W.; DAMASCO, P. V.; HIRATA JÚNIOR, R.; MATTOS-GUARALDI, A. L. Antimicrobial resistance among Brazilian *Corynebacterium diphtheriae* strains. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v.103, n.5, p.507-510, 2008.

PEREIRA, A.V. et al. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de jurema preta e neem sobre amostras de *Staphylococcus sp.* isoladas de mastite em búfalas. **Arq. Inst. Biol.**, v.76, n.3, p.341-346, 2009.

PEREIRA, E.M.R.; GOMES, R.T.; FREIRE, N.R.; AGUIAR, E.G.; BRANDÃO, M.G.L.; SANTOS, V.R. *In vitro* antimicrobial activity of Brazilian medicinal plant extracts against pathogenic microorganisms of interest to dentistry. **Planta Med**, v.77, p.401-404, 2011.

PEREIRA, G.A. **Aspectos fenotípicos e genotípicos de amostras de *Corynebacterium diphtheriae* isoladas no Brasil**. [Dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro, RJ: Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2001.

PEREIRA, M.N.S.; ANDRADE, A.C.U.; PILO-VELOSO, D. **Isolamento e identificação de metabólitos secundários das folhas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville**. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 17. Cuiabá. *Resumos*. Cuiabá: UFMT, 2002. QI.017.

PEREIRA, R.S. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Rev. Saúde Pública**, v.38, n.2, p.326-328, 2004.

PEREZ, S.C.J.G.A.; MORAES, J.A.P.V. Efeito da cumarina e de sua interação com giberelina na germinação de *Prosopis juliflora* (Sw) D.C. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26: p.1493-1501, 1991.

PERUZZI, M.F. et al. **Avaliação da atividade antioxidante pela inibição da peroxidação lipídica e quelação de íon ferro de extratos metanólicos de *Azadirachta indica* (neem)**. In: V Simpósio de Bioquímica e Biotecnologia. Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2015.

PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants. **J. Nat. Prod.**, v. 63, n. 7, p.1035-1042, 2000.

PINHO, L. et al. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. **Ciência Rural**, v.42, n.2, p.326-331, 2012.

PINTO, E.P.P.; AMOROZO, M.C.M.; FURLAN, A. Conhecimento popular sobre plantas medicinais em comunidades rurais de mata Altântica-Itacaré, BA, Brasil. **Acta Bot. Bras.**, v. 20, n. 4, p.751-762, 2006.

PORTO, K.R.A. et al. Atividade larvicida do óleo de *Anacardium humile* Saint Hill sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.41, n.6, p.586-589, 2008.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, v. 269, p.337-341, 1999.

POTERA, C. Forging a link between biofilms and disease. **Science**. v. 283, p. 1837–1838, 1999.

PRACHAYASITTIKUL, S. et al. Antioxidant and antimicrobial activities of *Saraca thaipingensis* Cantley ex Prain. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. p. S796-S799, 2012.

PROENÇA, C.; OLIVEIRA, R.S.; SILVA, A.P. **Flores e frutos do cerrado**. Brasília: EdUnB, São Paulo: Imprensa oficial. 2000.

QUEIROZ, M.R.A. et al. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia origanoides* frente à *Staphylococcus* sp. isolados de alimentos de origem animal. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.16, n.3, p.737-743, 2014.

QUEIROZ, C.R.A.A.; MORAIS, S.A.L.; NASCIMENTO, E.A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, v.26, p.485-492, 2002.

RAKHOLIYA, K. et al. **Antimicrobial activity of decoction extracts of residual parts (seed and peels) of *Manifera indica* L. var. Kesar against pathogenic and food spoilage**

**microorganism**, p.850-856. In: MÉNDEZ-VILAS, A. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. Formatex, 2013.

RAMOS, J.N. **Caractetização de estirpes sugestivas de corinebactérias isoladas de sítios intravenosos**. [Dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro, RJ: Fundação Oswaldo Cruz, 2014.

REACHER, M.; RAMSAY, M.; WHITE, J.; DE ZOYZA, A.; EFSTRATIOU, A.; MANN, G.; MACKAY, A.; GEORGE, R.C. Nontoxicogenic *Corynebacterium diphtheriae*: an emerging pathogen in England and Wales? **Emerg Infect Dis**, v.6, p.640-645, 2000.

REDDY, B. S.; CHAUDHURY, A.; KALAWAT, U.; JAYAPRADA, R.; REDDY, G.; RAMANA, B. V. Isolation, speciation, and antibiogram of clinically relevant non-diphtherial Corynebacteria (Diphtheroids). **Indian J Med Microbiol.**, v.30, n.1, p.52-57, 2012.

REY, M.; PATEY, O.; VINCENT-BALLEREAU. **Diphtheria's European come back**. European Communicable Disease Bulletin 1996, 1(2).

RIBEIRO, A.Q.; LEITE, J.P.V.; DANTAS-BARROS, A.M. Perfil de utilização de fitoterápicos em farmácias comunitárias de Belo Horizonte sob a influência da legislação nacional. **Rev Bras Farmacogn**, v.15, p.65-70, 2005.

RIEGEL, P. et al. Taxonomy of *Corynebacterium diphtheriae* and related taxa, with recognition of *Corynebacterium ulcerans* sp. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 26, p.271-276, 1995.

RODRIGUES, D.F. et al. O extrato da casca de barbatimão, *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville, na cicatrização de feridas em animais. **Enciclopédia Biosfera**, v.19, n.16, p.1583-1601, 2013.

RODRIGUES, M. **Morfogênese *in vitro*, análise fitoquímica e caracterização anatômica de nim (*Azadirachta indica* A. Juss)**. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2009.

ROGERO, S. O.; LUGÃO, A. B.; IKEDA, T. I.; CRUZ, A. S. Teste *in vitro* de Citotoxicidade: Estudo Comparativo entre Duas Metodologias. **Materials Research.**, v.6, n.3, p.317-320, 2003.

ROTILI, M.C.C. et al. Atividade antioxidante, composição química e conservação do maracujá-amarelo embalado com filme PVC. **Rev. Bras. Frutic.**, v.35, n.4, p.942-952, 2013.

ROJAS, A.; BAH, M.; ROJAS, J.I.; SERRANO, V.; PACHECO, S. Spasmolytic activity of some plants used by the Otomi Indians of Querétaro (México) for the treatment of gastrointestinal disorders. **Phytomedicine**, v.6, p.367-371, 1999.

ROSENBERG, M.; DOYLE, R.J. **Microbiol cell surface hydrophobicity: history, measurement and significance**. In: DOYLE, R.J.; ROSENBERG, M. (eds.) Microbial cell surface hydrophobicity. Washington, DC: American Society for Microbiology Press, 1990; 1-30.

ROSSI, F.; ANDREAZZI, D. **Resistência bacteriana: Interpretando o antibiograma**. Ed. Atheneu. São Paulo, 2005.

ROTILI, M. C. C.; COUTRO, S.; CELANT, V. M. VORPAGEL, J. A.; BARP, F. K.; SALIBE, A. B.; BRAGA, G. C. Composição, atividade antioxidante e qualidade do maracujá amarelo durante armazenamento. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 1, p. 227-240, 2013.

SABBADINI, P.S. et al. Fibrinogen binds to nontoxigenic and toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* strains. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.105, n.5, p.706-711, 2010.

SABBADINI, P.S. et al. *Corynebacterium diphtheriae* 67-72p hemagglutinin, characterized as the protein DIP0733, contributes to invasion and induction of apoptosis in HEp-2 cells. **Microb Pathog.** v.52, n.3, p.165-176, 2012.

SAGDIÇ, O. et al. A study on inhibitory effects of sigla tree (*Liquidambar orientalis* Mill. Var. *orientalis*) storax against several bacteria. **Phytother. Res.** v.19, p.549-551.

SAKAGAMI, Y.; KAJAMURA, K. Bactericidal activities of disinfectants against vancomycin – resistant Enterococci. **Journal of Hospital Infection**, v.50, n.2, p.140-144, 2002.

SALVADOR, J.O.; MOREIRA, A.; MURAOKA, T. Efeito da omissão combinada de N, P, k e S nos teores foliares de macronutrientes em mudas de goiabeira. **Sci. Agric.** v.56, n.2, 1999.

SALVADOR, J.O. et al. Influência do boro e do manganês no crescimento e na composição mineral de mudas de goiabeira. **Ciênc. Agrotec.**, v.27, n.2, p.325-331, 2003.

SALYERS, A.A.; WHITT, D.D. **Diphtheria**. In: Bacterial pathogenesis: a molecular approach. American Society for Microbiology, Washintong DC, USA. 1994, p. 113-121.

SAHITO, S.R. et al. Evolution of mineral contents in medicinal plant *Azadirachta indica* (neem). **Journal of The Chemical Society Of Pakistan**, v. 25, n. 2, p. 139-143, 2003.

SANCHES, A.C.C. Estudo morfológico comparativo das cascas e folhas de *Stryphnodendron adstringens*, *S. polyphyllum* e *S. obovatum* - Leguminosae. **Lat. Am. J. Pharm.** v.26, n.3, p.362-8, 2007.

SANDES, A.R.R.; DI BLASI, G. Biodiversidade e Diversidade Química e Genética. **Biotecnologia**, n.13. p. 28-32, 2000.

SANTOS, D. Y. A. C.; SALATINO, M. L. F.; SALATINO, A. Foliar flavonoids of *Lafoensia* (Lythraceae). **Biochem. Syst. Ecol.**, v.28, p.487-488, 2000.

SANTOS, L.S.; SANT'ANNA, L.O.; RAMOS, J.N.; LADEIRA, E.M.; STAVRACAKIS-PEIXOTO, R.; BORGES, L.L.G.; SANTOS, C.S.; NAPOLEÃO, F.; CAMELLO, T.C.F.; PEREIRA, G.A.; HIRATA JÚNIOR, H.; VIEIRA, V.V.; COSME, L.M.S.S.; SABBADINI, P.S.; MATTOS-GUARALDI, A.L. Diphtheria outbreak in Maranhão, Brazil: microbiological, clinical and epidemiological aspects. **Epidemiol. Infect.** v.143, p.791-798, 2015.

SANTHOSHKUMAR, T.; RAHUMAN, A. A.; JAYASEELAN, C.; RAJAKUMAR, G.; MARIMUTHU, S.; KIRTHI, A. V.; VELAYUTHAM, K.; THOMAS, J.; VENKATESAN, J.; KIM, S.K. Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles using *Psidium guajava* extract and its antibacterial and antioxidant properties. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.**, p. 968-976, 2014.

SANTURIO, J.M.; SANTURIO, D.F.; POZZATTI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P.R.; ALVES, S.H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares e *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural.** v. 37, p. 803-808, 2007.

SCHIAR, V. P. P.; SANTOS, D. B.; LUDTKE, D. S.; VARGAS, F.; PAIXÃO, M. W.; NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G.; ROCHA, B. T. Screening of potentially toxic chalcogens in erythrocytes. **Toxicology in vitro.**, v.21, p. 139-145, 2007.

SCHEER, M.B.; CARNEIRO, C.; BRESSAN, A.O.; SANTOS, K.G. Crescimento e nutrição de mudas de *Lafloensia pacari* com lodo de esgoto. **Floram**, v.19, n.1, p.55-65, 2012.

SCHUHEGGER, R. et al. Pigs as source for toxigenic *Corynebacterium ulcerans*. **Emerg. Infect. Dis.**, v.15, p.1314-1315, 2009.

SETO, Y. et al. Properties of Coryneophage attachment Site and Molecular Epidemiology of *Corynebacterium ulcerans* Isolated from Humans and Animals in Japan. **Jpn. J. Infect. Dis.**, v.61, p. 116-122, 2008.

SIEBRA, A. L. A.; LEMOS, I. C. S.; DELMONDES, G. A.; OLIVEIRA, L. R.; MARTINS, A. O. B. P. B.; SIEBRA, D. C.; COUTINHO, H. D. M.; ALBUQUERQUE, R. S.; LEITE, N. F.; COSTA, J. G. M.; MENEZES, I. R. A.; KERNTOPF, M. R. Atividade antimicrobiana e caracterização fitoquímica dos extratos hidroalcoólicos de *Passiflora cincinnata* Mast. (maracujá-do-mato). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.19, n.1, p.319-328, 2014.

SIEGEL, S.M.; HAILE, C.A. *Corynebacterium ulcerans* pneumonia. **South Med. J.**, v.78, p.1267, 1985.

SIDIQUI, B.S.; AFSHAN, F.; GULZAR, T.; SULTANA, R.; NAQVI, S.N.; TARIQ, R. M. Tetracyclic triterpenoids from the leaves of *Azadirachta indica* and their insecticidal activities. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 51, n. 4, p.415-417, 2003.

SILVA, P. B. **Análise fitoquímica de *Tithonia diversifolia* cultivada no herbário de plantas medicinais do hospital universitário (HU)**. 2003. 46f. Monografia (Graduação em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

SILVA, C. J.; BARBOSA, L. C. A.; DEMUNER, A. J.; MONTANARI, R. M.; PINHEIRO, A. L.; DIAS, I.; ANDRADE, N. J. Chemical composition and antibacterial activities from the essential oils of Myrtaceae species planted in Brazil. **Quim. Nova**, v. 33, n. 1, p.104-108, 2010

SILVA, P. C. S. C. **Efeito da variação sazonal na produção compostos ativos em *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray, utilizando ensaio com microrganismos**. 2004. 37f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

SILVA, J. K.; CAZARIN, C. B. B.; COLOMEU, T. C.; BATISTA, A. G.; MELETTI, L. M. M.; PASCHOAL, J. A. R.; BOGUSZ JÚNIOR, S.; FURLAN, M. F.; REYES, F. G. R.; AUGUSTO, F.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R.; ZOLLNER, R. L. Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: *in vitro* and *in vivo* study. **Food Research International**, v.53, n.2, p.882-890, 2013.

SILVA, I. C. A.; ALEIXO, A. A.; ALEIXO, A. M.; FIGUEIREDO, A. P.; LEMUCHI, M. O.; LIMA, L. A. R. S. Análise fitoquímica e atividade antioxidante do extrato hidroetanólico das folhas de *Psidium guajava* L. (Goiabeira). In: IV JORNADA ACADÊMICA INTERNACIONAL DE BIOQUÍMICA E I SEMANA CIENTÍFICA DE BIOTECNOLOGIA, 2013, **Anais BBR - Biochemistry and Biotechnology Reports**. v. 2, n. 2, jun., p. 76-78, 2013.

SILVA, H. A. M. F.; SÁ, J. L. F.; RIBEIRO, L. R. S.; SANTOS, G. H. F.; SILVA, E. B.; LIMA, C. S. A.; AMÂNCIO, F. F.; MELO, A. M. M. A. Analysis of toxicity of *Anacardium occidentale* L. extract submitted to ionizing radiation on embryos of *Biomphalaria glabrata* and *Artemia salina*. **INAC**, 2013.

SILVA, C. S.; NUNES, P. O.; MESCOUTO, C. S. T.; MULLER, R. C. S.; PALHETA, D. C.; FERNANDES, K. G. Avaliação do uso da casca do fruto e das folhas de *Caesalpinia férrea* Martius como suplemento nutricional de Fe, Mn e Zn. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 30, n.3, p. 751-754, 2010.

SILVA, H.V.C. Ação da *Stryphnodendron barbatiman* sobre a cicatrização: estudo experimental em ratos. **HB Cient.**, v.3, n.1, p.77-79, 1996.

SILVA, P.C.S.C. **Efeito da variação sazonal na produção de compostos ativos em *tithonia diversifolia* (HEMSL) Gray, utilizando ensaio com microrganismos.** Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2004.

SILVA, J.G. et al. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.4, p.572-577, 2007.

SILVA, M.I.G.; GONDIM, A.P.S.; NUNES, I.F.S.; SOUSA, F.C.F. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). **Rev Bras Farmacogn**, v.16, p.455-462, 2006.

SILVA, V.F. et al. Potencial antimicrobiano de extratos etanólicos de plantas frente a bacilos gram negativos isolados da mucosa cérvico-vaginal de ovelhas criadas na região de Petrolina-PE. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n.2, p.883-890, 2014.

SILVA JÚNIOR, I.F.; CECHINEL FILHO, V.; ZACCHINO, A.S.; LIMA, J.C.S.; MARTINS, D.T.O. Antimicrobial screening of some medicinal plants from Mato Grosso Cerrado. **Rev. Bras. Farmacogn**, v.19, n.1B, p.242-248, 2009.

SILVEIRA, L.M.S.; ROSAS, L.S.; OLEA, R.S.G.; GONÇALVES, E.C.; FONSECA JÚNIOR, D.C. Atividade antibacteriana de extrato de gervão frente cepas de *Staphylococcus*

*aureus* oxacilina-sensíveis e oxacilina-resistentes isoladas de amostras biológicas. **RBAC**, v.39, n.4, p.299-301, 2007.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; SIMON, D. **O guia decepar chora de ervas: 40** receitas naturais para sua saúde perfeita. Rio de Janeiro: Campus, 2001.

SIMÕES, C. M. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4. ed. Porto Alegre: UFSC, 2002. 798p.

SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFSC, 2004. 1102p.

SING, A. et al. Detection of differences in the nucleotide and amino acid sequences of diphtheria toxin from *Corynebacterium diphtheriae* and *Corynebacterium ulcerans* causing extrapharyngeal infections. **J. Clin. Microbiol.**, v.41, p.4848-4851, 2003.

SINGH, B.R. et al. Antimicrobial activity of methanolic extract and ether extract of *Ageratum conyzoides*. **Pharm. Anal. Acta**, v.7, n.3, p.1-8, 2016.

SINGH, J.; HARIT, A.K.; JAIN, D.C.; PANDA, R.C.; TEWARI, K.N.; BHATIA, R. Diphtheria is declining but continues to kill many children: analysis of data from a sentinel center in Delhi. **Epidemiol Infect.** v. 123, p. 209-215, 1999.

SHARMA, N.C.; BANAVALLIKER, J.N.; RANJAN, R.; KUMAR, R. Bacteriological & epidemiological characteristics of diphtheria cases in & around Delhi -a retrospective study. **Indian J Med Res.** v. 126, p. 545-552, 2007.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p.71-81, 2002.

SOLON, S.; LOPES, L.; SOUSA JÚNIOR, P.T.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Free radical scavenging activity of *Lafoensia pacari*. **J. Ethnopharmacol**, v.72, p.173-178, 2000.

SOUSA, C.M.M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quím. Nova**, v.30, n.2, p.351-355, 2007.

SOUZA, C.M.P. et al. Utilização de plantas medicinais com atividade antimicrobiana por usuários do serviço público de saúde em Campina Grande-Paraíba. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.15, n.2, p.188-193, 2013.

SOUZA, J.N.P et al. Bioprospecção das atividades antioxidante e antimicrobiana de espécies vegetais medicinais coletadas em Ouro Preto-MG. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Vol. X, n.1, p.01 - 15, 2013.

SOUZA, M. C. et al. Biofilm formation and fibrinogen and fibronectin binding activities by *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* invasive strains. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v.107, n.6, p.1387-99, 2015.

SOUZA, M.C., et al. Aggregative adherent strains of *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* enter and survive within HEP-2 epithelial cells. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v.107, p. 486-93, 2012.

SOUZA, T.M. et al. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v.28, n.2, p.221-226, 2007.

SOUZA, P. C.; MOREY, A. T.; CASTANHEIRA, G. M.; BOCATE, K. P.; PANAGIO, L. A.; ITO, F. A.; FURLANETO, M. C.; YAMADA-OGATTA, S. F.; COSTA, I. N.; MORA-MONTES, H. M.; ALMEIDA, R. S. *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) as an alternative host to study fungal infections. **Rev Argent Microbiol.**, v.48, p.290-292, 2016.

SOUZA, L. B.; HEITOR, L. C.; SANTOS, P. C.; FREITAS, J. A. A.; FREITAS, M. S. M.; FREITAS, S. J.; CARVALHO, A. J. C. Crescimento, composição mineral e fenóis totais de espécies de *Passiflora* em função de fontes nitrogenadas. **Bragantia**, v. 72, n. 3, p.247-254, 2013.

SOUZA, T. M.; SEVERI, J. A.; SILVA, V. Y. A.; SANTOS, E.; PIETRO, R. C. L. R. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 28, n.2, p.221-226, 2007.

SOUZA, C. D.; FARIA, Y. V.; SANT'ANNA, L. O.; VIANA, V. G.; SEABRA, S. H.; SOUZA, M. C.; VIEIRA, V. V.; HIRATA, JR. R.; MOREIRA, L. O.; MATTOS-GUARALDI, A. L. Biofilm production by multiresistant *Corynebacterium striatum* associated with nosocomial outbreak. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v. 2. n. 110. p. 242-248, 2015.

SORIANO, F.; HUELVES, L.; NAVES, P.; RODRIGUEZ-CERRATO, V.; DEL PRADO, G.; RUIZ, V.; PONTE, C. In vitro activity of ciprofloxacin, moxifloxacin, vancomycin and erythromycin against planktonic and biofilm forms of *Corynebacterium urealyticum*. **Journal Antimicrob Chemother**. v. 63. p. 353-356, 2008.

SROKA, Z.; FECKA, I.; CISOWSKI, W. Antiradical and anti-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> properties of polyphenolic compounds from an aqueous peppermint extract. **Zeitschrift für Naturforschung Teil C: Biochemie, Biophysik, Biologie, Virologie**, v. 60, n. 11-12, p. 826-832, 2005.

STAVRACAKIS-PEIXOTO, R.; SIQUEIRA, G.C.O.; LUCA, F.M.; SANT'ANNA, L.O.; SANTOS, L.S.; GOMES, D.L.R.; SOUZA, M.C.; SABABADINI, P.S.; HIRATA JÚNIOR, R.; MARTINS, C.A.S.; MATTOS-GUARALDI, A.L. Phenotypic aspects and pathogenic potential of *Corynebacterium diphtheriae* strains isolated from cancer with osteomyelitis. **RBCA**. v. 43, p. 230-236, 2011.

STAVRACAKIS-PEIXOTO, R. et al. Invasion of endothelial cells and arthritogenic potential of endocarditis-associated *Corynebacterium diphtheriae*. **Microbiology**. v.160, p.537-546, 2014.

STOODLEY, P.; SAUER, K.; DAVIES, D.G.; COSTERTON, J.W. Biofilms as complex differentiated communities. **Annu. Rev. Microbiol.** v. 56, p. 187–209, 2002.

STRONG, D.R.; LAWTON, J.H.; SOUTHWOOD, T.R.E. **Insects on plants: community patterns and mechanisms.** London. Blackwell Scientific, 1984. 313p.

SWAPNA, N.L.; AMMANI, K.; SARIPALLI, H.R.P. Antibacterial efficacy of Mokkathotapapada leaf extracts of *Piper betel* L. Cv. Kapoori, a local cultivar (Green gold of India). **J. Chem. Bio. Phy. Sci. Sec.**, v.3, n.1, p.233-240, 2013.

SYKES, J.E. et al. *Corynebacterium ulcerans* bronchopneumonia in a dog. **J. Vet. Intern.Med.**, v. 24, p. 973-976, 2010.

TAMURA, N.K. et al. Fatores de virulência de *Candida* spp. isoladas de cateteres venosos e mãos de servidores hospitalares. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.40, n.1, p.91-93, 2007.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: Resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Rev Soc Bras Med Trop**, v.33, n.3, p.281-301, 2000.

TAVARES, W. **Manual de antibioticos e quimioterapicos antiinfecciosos.** 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2001.

TAYLOR, D.J.; EFSTRATIOU, A.; REILLY, W.J. Diphtheria toxin production by *Corynebacterium ulcerans* from cats. **Vet. Rec.**, v.150, p.355, 2002.

TIM CUSHNIE, T. P.; LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. **Inter. J. Antim. Agent.** v. 26, p. 343–356, 2005.

TIWARI, T.S. et al. Investigations of 2 cases of diphtheria-like illness due to toxigenic *Corynebacterium ulcerans*. **Clin. Infect. Dis.**, v. 46, p.395-401, 2008.

TOLENTINO, T.A.; SANTOS, D.S.; PAIVA, M.S.; FALCÃO, T.M.B.; LINHARES NETO, M.V.; ALMEIDA, M.C.S. Efeito alelopático e atividade antioxidante de *Lafoensia pacari*. **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 34, São Paulo, Brasil, 2011.

TONELLO, V.M. **Estrutura de Populações de *Lafoensia pacari* St. Hil. e Dados Etnobotânicos e Fenológicos em Nossa Senhora do Livramento-MT.**94p. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação da Biodiversidade), Universidade Federal do Mato Grosso. Cuiabá. 1997.

TONGMA, S.; KOBAYASHI, K.; USUI, K. Allelopathic activity of Mexican sunflower [*Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray] in soil under natural field conditions and different moisture conditions. **Weed Biology and Management**, v.1, p.115-119, 2001.

TÔRRES, A.R.; OLIVEIRA, R.A.G.; DINIZ, M.F.F.M.; ARAÚJO, E.C. Estudo sobre o uso de plantas medicinais em crianças hospitalizadas da cidade de João Pessoa: riscos e benefícios. **Rev Bras Farmacogn.** v.15, p.373-380, 2005.

TREERATANAPIBOON, L. et al. Bioactive 4-hydroxycinnamide and bioactivities of *Polyalthia cerasoides*. **EXCLI Journal**, v.10, p.16-22, 2011.

TUROLLA, M. S. R.; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 42, n. 2, p.289-306, 2006.

UCHÔA-THOMAZ, A. M. A.; SOUSA, E. C.; CARIOCA, J. O. B.; MORAIS, S. M.; LIMA, A.; MARTINS, C. G.; ALEXANDRINO, C. D.; FERREIRA, P. A. T.; RODRIGUES, A. L. M.; RODRIGUES, S. P.; THOMAZ, J. C. A.; SILVA, J. N.; RODRIGUES, L. L. Chemical composition, fatty acid profile and bioactive compounds of guava seeds (*Psidium guajava* L.). **Food Sci. Technol**, v.34, n.3, p. 485-492, 2014.

UNNIKRISHNAN, G. et al. Microbial sensitivity assay & HPTLC analysis of *Terminalia catappa* & *Adathoda vasica*. **Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research**, v.3, n.4, p.58-62, 2014.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VENDRUSCOLO, G.S.; RATES, S.M.K.; MENTZ, L.A. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Rev Bras Farmacogn**. v.15, p.361-372, 2005.

VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANCINI FILHO, J.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de polpas de frutos tropicais. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 33, n. 3, p. 888-897, 2011.

VIEIRA, D. R. P.; AMARAL, F. M. M.; MACIEL, M. C. G.; NASCIMENTO, F. R. F.; LIBÉRIO, S. A.; RODRIGUES, V. P. Plant species used in dental diseases: Ethnopharmacology aspects and antimicrobial activity evaluation. **Journal of Ethnopharmacology**, v.155, p.1441-1449, 2014.

VIOLANTE, I.M.P.; SOUZA, I.M.; VENTURINI, C.L.; RAMALHO, A.F.S.; SANTOS, R.A.N.; FERRARI, M. Avaliação *in vitro* da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. **Rev. Bras. Farmacogn**, v.19, n.2A, p.452-57, 2009.

VOLPATO, A. M. M. **Investigação do potencial antibacteriano de *Calendula officinalis* (Asteraceae) para seu emprego como fitoterápico**. 2005. 115 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

VON HUNOLSTEIN, C. et al. Molecular epidemiology and characteristics of *Corynebacterium diphtheriae* and *Corynebacterium ulcerans* strains isolated in Italy during the 1990s. **J. Med. Microbiol**. v.52, n.Pt 2, p.181-188, 2003.

VON HUNOLSTEIN, C. et al. Penicillin tolerance amongst non toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* isolated from cases of pharyngitis. **J Antimicrob Chemother**. v.50, n.1, p.125-8, 2002.

WANG, J.; LONDON, E. The membrane topography of the diphtheria toxin T domain linked to the a chain reveals a transient transmembrane hairpin and potential translocation mechanisms. **Biochemistry**. v. 48, p.10446-10456, 2009.

WARAICH E. A; et al. Improving agricultural water use efficiency by nutrient management. **Acta Agri Scandi-Soil & Plant Sci**, v. 61, n. 4, 291-304. 2011.

WELLINGHAUSEN, N. et al. A fatal case of necrotizing sinusitis due to toxigenic *Corynebacterium ulcerans*. **Int. J. Med. Microbiol.**, v.292, p.59-63, 2002.

WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic absorption spectrometry**. 3. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 1999.

YANG, Z. G.; SUN, H. X.; FANG, W. H. Haemolytic activities and adjuvant effect of *Astragalus membranaceus* saponins (AMS) on the immune responses to ovalbumin in mice. **Vaccine**, v. 23, p. 5196-5203, 2005.

YANAGAWA, R.; HONDA, E. Presence of Pili in Species of Human and Animal parasites and pathogens of the genus *Corynebacterium*. **Infect Immun**, v.13, p.1293-1295, 1976.

YOON, S.; KIM, H.; LEE, Y.; KIM, S. Bacteremia caused by *Corynebacterium amycolatum* with a novel mutation in *gyrA* gene that confers high-level quinolone resistance. **Korean J Lab Med.**, v.31, n.1, p.47-48, 2011.

YMAIZUMI, M.; MEKADA, E.; UCHIDA, T.; OKADA, Y. One molecule of diphtheria toxin fragment a introduced into a cell can kill the cell. **Cell**. v.15, n.1, p.245-50, 1978.

YUNES, R.A.; PEDROSA, R.C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n.1, p. 147-152, 2001.

ZOCOLER, A. M. D.; SANCHES, A. C. C.; ALBRECHT, I.; MELLO, J. C. P. Antioxidant capacity of extracts and isolated compounds from *Stryphnodendron obovatum* Benth. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 45, n. 3, p. 443-452, 2009.

**ANEXOS**

## ANEXO A: Parecer consubstanciado do CEP



CENTRO UNIVERSITÁRIO DO  
MARANHÃO - UNICEUMA



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA CONTRA AMOSTRAS DE *Corynebacterium* spp E INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO POR PLANTAS MEDICINAIS DO CERRADO MARANHENSE

**Pesquisador:** Wellyson Firmo

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 59213616.9.0000.5084

**Instituição Proponente:** Centro Universitário do Maranhão - UniCEUMA

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.732.522

**Apresentação do Projeto:**

O gênero *Corynebacterium* é composto por mais de 100 espécies. *Corynebacterium* spp., têm sido citadas com frequência aumentada como patógenos de infecções nosocomiais associadas à sepse, endocardite, infecções de feridas cirúrgicas, próteses e infecções relacionadas ao cateter venoso central, o que está relacionado a capacidade do micro-organismo de expressar diferentes fatores de virulência. Variações geográficas na frequência das espécies isoladas e na resistência antimicrobiana natural e adquirida já foram descritas. As plantas medicinais correspondem às mais antigas "armas" empregadas pelo homem no tratamento de enfermidades. Nas últimas décadas houve um crescente interesse pelo uso de plantas medicinais e dos respectivos extratos na terapêutica, incluindo sua aplicação na inibição dos fatores de virulência. Nesse sentido, o trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antibacteriana de extratos de plantas medicinais do cerrado maranhense contra *Corynebacterium* spp. e a capacidade de inibirem a hemaglutinação.

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário:

- Avaliar a atividade antibacteriana de extratos de plantas medicinais do cerrado maranhense contra *Corynebacterium* spp., e a capacidade de inibirem a hemaglutinação.

**Endereço:** DOS CASTANHEIROS  
**Bairro:** JARDIM RENASCENCA **CEP:** 65.075-120  
**UF:** MA **Município:** SAO LUIS  
**Telefone:** (98)3214-4212 **Fax:** (98)3214-4212 **E-mail:** cep@ceuma.br

**ANEXO B: Artigo 1 – Atividade antibacteriana de plantas medicinais: uma prospecção tecnológica**

www.revistageintec.net  
ISSN: 2237-0722

revista  
**GEINTEC**  
Gestão, Inovação e Tecnologias

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE PLANTAS MEDICINAIS: UMA PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA**

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MEDICINAL PLANTS: AN EXPLORATION TECHNOLOGY**

Wellyson da Cunha Araújo Firmo<sup>1,2\*</sup>, Helmara Diniz Costa<sup>1</sup>, Hermínio Benitez Rabello Mendes<sup>1</sup>,  
Luana Fontoura Gostinski<sup>1</sup>, Isabel Cristina Lopes Dias<sup>1</sup>, Priscila Soares Sabbadini<sup>3</sup>,  
Gilvanda Silva Nunes<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Doutorando (a) em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal-Rede BIONORTE, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís-MA, Brasil

<sup>2</sup> Docente da Faculdade de Educação de Bacabal (FEBAC), Bacabal-MA, Brasil

<sup>3</sup> Docente do Programa Rede BIONORTE, Universidade Ceuma (UniCeuma), São Luís-MA, Brasil

<sup>4</sup> Docente do Programa Rede BIONORTE, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís-MA, Brasil

\*well\_firmo@hotmail.com

**Resumo**

*Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde tempos imemoriais, entre estes estão às plantas medicinais. A busca por alívio e cura de doenças pela ingestão de ervas e folhas talvez tenham sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais. O presente trabalho teve como objetivo a realização de uma prospecção tecnológica sobre plantas medicinais com atividade antibacteriana. Foram utilizadas as bases de artigos científicos Science Direct, Web of Science e SCOPUS. Para teses e dissertações, o banco de Teses da CAPES, e para patentes, as bases do INPI, WIPO e EPO. A pesquisa foi realizada em julho de 2014, caracterizando um estudo documental. Foi possível observar um quantitativo superior de artigos científicos em relação as patentes sobre o tema abordado. Na base da WIPO, os descritores que mais almejam o objetivo da pesquisa, foram encontrados 38 patentes, o país com maior número de depósito de patentes foi República da Coreia com 27, onde 32 estão classificadas na Seção A (necessidades humanas) e o ano que ocorreu mais depósito foi 2005, com 7 patentes. Há necessidade de mais investimentos em pesquisas e incentivos na elaboração de produtos terapêuticos.*

**Palavras-chave:** antibacteriano, plantas medicinais, prospecção tecnológica.

**Abstract**

*Natural products are used by humans since ancient times, among these are the medicinal plants. The search for relief and cure of diseases by eating grass and leaves may have been one of the first*

*ways of using natural products. The present study aimed to the realization of a technological exploration of medicinal plants with antibacterial activity. For this, the foundations of scientific papers, Science Direct, Web of Science and SCOPUS for theses and dissertations, bank CAPES thesis, and patents were used examined the foundations of the INPI, WIPO and EPO, the survey was conducted in July 2014, featuring a documentary study. It was possible to observe a higher quantity of scientific articles relating to patents about the topic. At the base of WIPO, the descriptors that longed for more research objective of 38 patents were found, the largest number of patent applications was South Korea with 27, 32 which are classified in Section A (human needs) and the year occurred more deposit was in 2005 with 7 patents. There is need for more investment in research and incentives in developing therapeutic products.*

**Key-words:** antibacterial, patents, medicinal plants.

### **Introdução**

Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde tempos imemoriais, entre estes estão às plantas medicinais. A busca por alívio e cura de doenças pela ingestão de ervas e folhas talvez tenham sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais (VIEGAS JÚNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006). Planta medicinal é todo vegetal que contém em um de seus órgãos, ou em toda a planta, compostos que podem ser empregados com fins terapêuticos, sendo amplamente utilizados pela medicina alternativa (AMOROZO, 2002; GOMES; FIRMO; VILANOVA, 2014). A utilização de plantas medicinais é uma prática comum entre as populações. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 80% da população mundial recorrem às medicinas tradicionais para atender suas necessidades primárias de assistência médica (VENDRUSCOLO; MENTZ, 2006).

Portanto, a elucidação dos componentes ativos presentes nas plantas, bem como seus mecanismos de ação, vem sendo um dos maiores desafios para a química farmacêutica, bioquímica e a farmacologia (GEBHARDT, 2000; PEREIRA; CARDOSO, 2012). As plantas contêm inúmeros constituintes e seus extratos, quando testados, podem apresentar efeitos sinérgicos entre os diferentes princípios ativos, devido à presença de compostos de classes ou estruturas diferentes que contribuem para a mesma atividade. No estudo da atividade biológica de extratos vegetais, é importante a seleção de bioensaios para a detecção do efeito específico. Os sistemas de ensaio devem ser simples, sensíveis e reprodutíveis (MACIEL et al., 2002; SOARES; ANDREAZZA; SALVADOR, 2004).

Tendo em vista que bactérias resistentes a múltiplos antimicrobianos representam um desafio no tratamento de infecções, é notória a necessidade de encontrar novas substâncias com propriedades antibacterianas para serem utilizadas no combate a esses microorganismos (PEREIRA et al., 2004; FIRMO et al., 2014).

Assim, os produtos naturais vêm recuperando espaço e importância na indústria farmacêutica, como fonte inspiradora de novos padrões moleculares bioativos (BARREIRO; FRAGA, 2001). A natureza, de um modo geral, é a responsável pela produção da maioria das substâncias orgânicas conhecidas, o reino vegetal responsável pela maior parcela da diversidade química conhecida e registrada na literatura (MONTANARI; BOLZANI, 2001). Pois, a síntese de novas substâncias a serem bioensaiadas, na busca de fármacos novos, passou a ser dispendiosa demais, visto o pequeno número de novos compostos que venciam as etapas pré-clínicas e clínicas, chegando ao mercado como medicamentos (YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO, 2001; FIRMO et al., 2011).

Todavia, a prospecção tecnológica designa atividades de pesquisas centradas nas mudanças tecnológicas, na capacidade funcional ou no tempo e significado de uma inovação, visando

incorporar informação ao processo de gestão tecnológica, tentando prever possíveis estados futuros da tecnologia ou condições que afetam sua contribuição para as metas estabelecidas (AMPARO; RIBEIRO; GUARIEIRO, 2012).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo a realização de uma prospecção tecnológica sobre plantas medicinais com atividade antibacteriana, em bases nacional e internacional de artigos científicos, teses, dissertações e patentes.

### Metodologia

Este trabalho é uma pesquisa documental exploratória de abordagem quantitativa. Foi feita uma prospecção tecnológica no período de maio a junho de 2014, de conteúdo de patentes mediante consultas ao banco de patentes, do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), ao Banco Europeu de Patentes (EPO) e à Organização Mundial de Propriedade Intelectual (WIPO). Para a busca de teses e dissertações, utilizou-se o banco de Teses da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), e para a pesquisa de artigos científicos, foram utilizadas as bases *Science Direct*, a *Web of Science* e a *SCOPUS*. As palavras-chaves utilizadas foram: produto natural, planta medicinal, erva, antibacteriano, antibiótico, bactericida, bacteriostático e forma farmacêutica. A falta destas, foram realizados truncamentos e agrupamentos de palavras. Os termos em inglês foram utilizados para as bases internacionais, enquanto que os termos em português, para base nacional, onde os descritores eram apresentados no título e/ou no resumo.

### Resultados e Discussão

A patente, garante a apropriação dos resultados obtidos a partir do processo de inovações tecnológicas, sendo um método de proteção temporária, além de gerar estímulos nos agentes para que se movam na direção do crescimento econômico (FERREIRA; GUIMARÃES; CONTADOR, 2009).

A partir da análise das palavras-chave e suas combinações, às vezes com o uso de truncamentos, foi avaliado o número de pedido de patentes por base estudada (Tabela 1).

**Tabela 1** – Número de Patentes por palavras-chave, truncamento e agrupamento de palavras recuperadas nas bases de patentes mais consultadas.

Palavras-chave	INPI		WIPO	EPO
	Título	Resumo	Todos os campos	Título ou Resumo
Produto* natura* Natura* product*	18309	37017	61056	80207
Plant* medicina* Medicina* plant*	6243	7494	5430	21793
Erva* Herb	993	658	16892	2
Antibacterian* Antibacterial	262	479	38078	0
Antibiotic* Antibiotic	250	564	0	5
Bactericida* Bactericid	153	383	4	17674
Bacteriostatic* Bacteriostatic	13	54	2308	3605
Forma Farmacêutica Pharmaceutical form	13751	66275	43465	46028

Tabela 1 – Continuação.

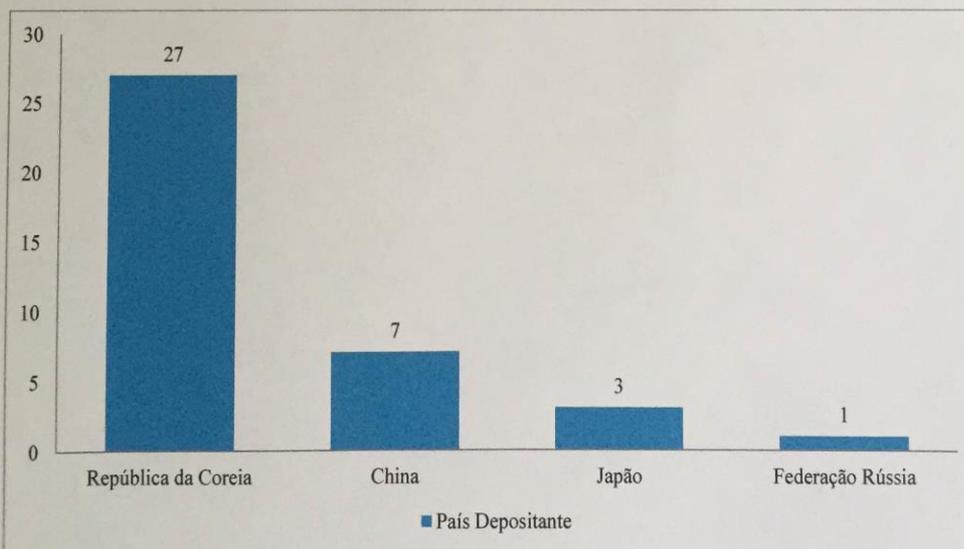
Produto* natura* or planta* medicina* or erva* and (antibacterian* or antibiotic* or bactericida* or bacteriostatic*)	47	219	38	55
<i>Natura* product* or medicina* plant* or herb and (antibacterial or antibiotic or bactericid or bacteriostatic)</i>				
Forma* farmacêutica* and (antibacterian* or antibiotic* or bactericida* or bacteriostatic*)	77	161	886	163
<i>Pharmaceutical form and (antibacterial or antibiotic or bactericid or bacteriostatic)</i>				

Fonte: Autores, 2014.

Nota-se, na Tabela 1, um grande número de patentes encontradas nas diversas bases. Isso se deve principalmente ao fato de que os estudos com plantas medicinais são constantes e vêm sendo realizados há muito tempo. As estatísticas de patentes estão sendo cada vez mais reconhecidas como indicadores úteis da atividade inventiva e de fluxos de tecnologia (WIPO, 2012). Percebe-se, desde a década de 90, uma crescente procura por produtos terapêuticos ditos “naturais”, e isso se reflete no número de patentes nessa área, que também vem aumentando.

Na base de patentes WIPO, utilizando as seguintes palavras-chave (com truncamento e associações de descritores) - *Natura\* product\* or medicina\* plant\* or herb and (antibacterial or antibiotic or bactericid or bacteriostatic)*, observou-se que tais palavras foram as que mais resultaram em patentes, tendo sido encontradas 38 patentes. Isso reflete a real situação de patentes à base do uso de plantas medicinais com ação bactericida. Em uma análise mais detalhada sobre estas patentes, foram extraídas as informações constantes nas Figuras 1, 2 e 3.

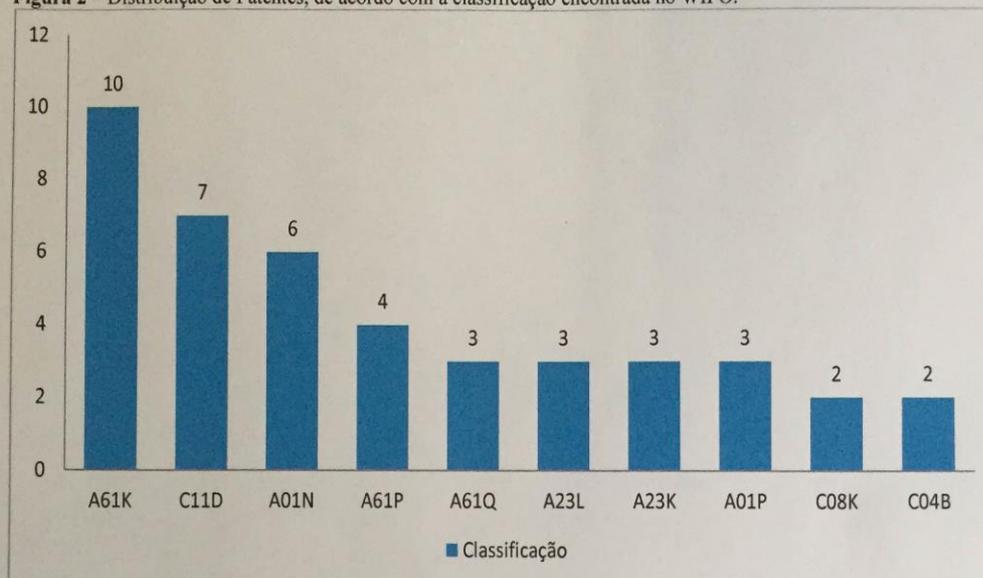
Figura 1 - Distribuição dos países depositantes das patentes na WIPO.



Fonte: Autores, 2014.

Na Figura 1, observa-se que a República da Coreia destaca-se com o número de 27 patentes depositadas, em seguida estão a China (7), Japão (3) e Federação Rússia (1). Interessante observar que a Coreia do Sul não apresenta uma grande biodiversidade, em comparação com outros países como o Brasil, por exemplo. Contudo, a preocupação em investir em tecnologia favoreceu o crescimento tecnológico deste país, colocando-o no *ranking* de depósitos de patentes sobre plantas medicinais com ação antibacteriana, além de outras áreas da biotecnologia.

**Figura 2** – Distribuição de Patentes, de acordo com a classificação encontrada no WIPO.

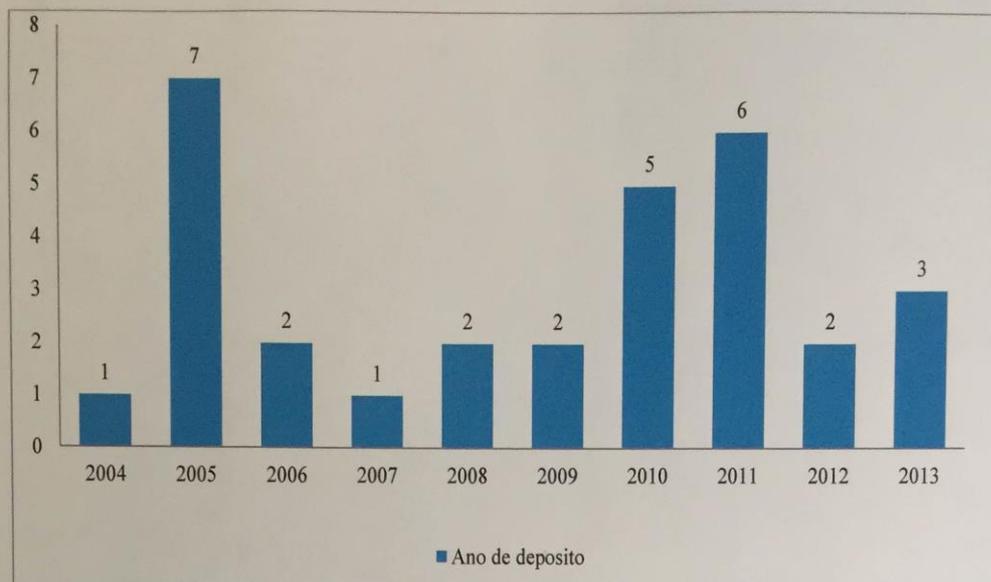


Fonte: Autores, 2014.

A Figura 2 mostra a classificação das patentes encontradas, vale apontar que foram observadas todas as patentes independentes da área que são classificadas, onde 32 estão inseridas na Seção A (necessidades humanas). Refinando-se ainda mais estes dados, tem-se que 17 patentes pertencem à subclassificação A6, que envolve características de Saúde, Salvamento e Recreação; 9 patentes enquadram na A0 (agricultura) e 6, a subclassificação A2 (produtos alimentícios e tabaco). Ainda, 11 patentes enquadram-se na Seção C (química e metalurgia), em C0 e C1 (química).

Observa-se que a maioria das patentes possui aspectos relacionados a estudos sobre problemas de saúde. Em se tratando de plantas medicinais, analisaram-se as patentes em relação a sua classificação, tornando perceptível que estão voltadas ao desenvolvimento de produtos com fins terapêuticos.

**Figura 3** – Distribuição de acordo com o ano de depósito das patentes encontradas no WIPO.



Fonte: Autores, 2014.

A Figura 3 mostra a evolução dos depósitos de patentes entre os anos de 2004 a 2013. Nota-se que o ano de 2005 foi o período que ocorreu a maioria dos pedidos de patentes (7), seguido do ano de 2011 (6) e 2010 (5). Todavia, no presente estudo, é notório que não há uma homogeneidade de depósitos de patentes, assim como não há um padrão de crescimento desses depósitos ao longo dos anos, e observa-se que nos últimos dos anos houve uma diminuição nos depósitos de patentes. Isto é particularmente preocupante, já que o número de patentes pode refletir o desenvolvimento tecnológico; assim, há necessidade de incentivo, neste campo na busca do crescimento na área de biotecnologia.

A Tabela 2, demonstra o quantitativo de teses e dissertações depositadas na base da CAPES.

**Tabela 2**–Teses e dissertações, por palavras-chave e agrupamento das palavras, recuperadas no banco de teses da CAPES

Palavras-chave	Teses e dissertações
Produto natural	308
Planta medicinal	146
Erva	140
Antibacteriano	65
Antibiótico	202
Bactericida	183
Bacteriostático	17
Forma Farmacêutica	246
Produto natural ou planta medicinal ou erva e antibacteriano ou antibiótico ou bactericida ou bacteriostático	17
Forma farmacêutica e antibacteriano ou antibiótico ou bactericida ou bacteriostático	17

Fonte: Autores, 2014.

Nota-se que quando pesquisadas os descritores em separado, apareceu um grande número de teses e dissertações, porém, quando se associam as palavras-chave, o número de teses e dissertações

podem ser considerados ainda restritos, pois, reduz significativamente, esse quantitativo, dada principalmente a grande biodiversidade brasileira.

Na Tabela 3, encontra-se a distribuição de publicação de artigos científicos indexados em bases internacionais.

**Tabela 3** – Número de artigos científicos por palavras-chave e agrupamento de palavras, recuperadas nas bases *Science Direct*, *Web of Science* e *SCOPUS*.

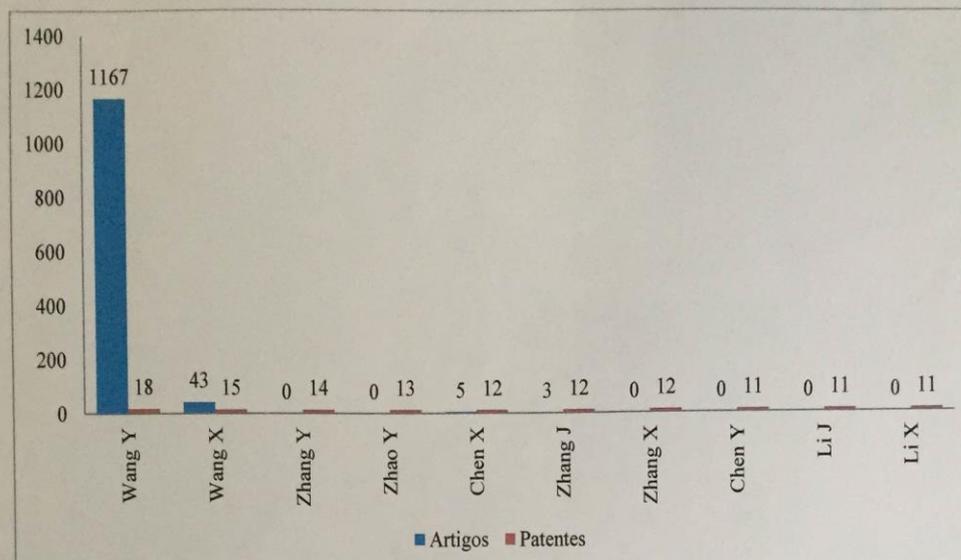
Palavras-chave	<i>Science Direct</i>	<i>Web of Science</i>	<i>SCOPUS</i>
Natural product	1305658	129543	121806
Medicinal plant	71828	31528	111814
Herb	77080	60061	45475
Antibacterial	117682	111561	94674
Antibiotic	514106	262005	593195
Bactericidal	53171	30632	39602
Bacteriostatic	15945	6906	5354
Pharmaceutical form	326908	75646	25273
Natural product or medicinal plant or herb and antibacterial or antibiotic or bactericidal or bacteriostatic	56198	446.171	1868
Pharmaceutical form and antibacterial or antibiotic or bactericidal or bacteriostatic	55598	293160	1120

Fonte: Autores, 2014.

Observa-se que existe um elevado número de publicações que envolvem o estudo de produtos naturais com ação antibacteriana. Realizando uma comparação entre os dados das Tabelas 2 e 3, fica explícito que ainda existe uma preferência em se publicar artigos, do que elaborar patentes para proteção de suas pesquisas. Isso certamente deve-se à pressão exercida sobre os pesquisadores para publicarem cada vez mais, com intuito de melhorar seus indicadores de produtividade científica em detrimento ao desenvolvimento tecnológico.

Foi feita uma pesquisa na base de dados de artigos científicos e de patentes da *Web of Science*, utilizando os seguintes termos: *Natura\* product\* or medicina\* plant\* or herb and (antibacterial or antibiotic or bactericid or bacteriostatic)*. O objetivo foi verificar a evolução de artigos científicos em relação às patentes. Foram encontradas 100.000 patentes, em comparação com 274.677 artigos científicos. Foi realizado um refinamento em ambas as bases, de forma a se detectar os autores que mais depositaram patentes ou publicaram artigos científicos no período (Figura 4).

Figura 4 – Distribuição da relação de artigos científicos e patentes por autor encontrada na base *Web of Science*.



Fonte: Autores, 2014.

A Figura 4 demonstra claramente que o índice de publicação de artigo é mais elevado do que de patentes. Outro fato digno de nota é que os chineses ocupam hoje o topo do *ranking* de patentes de tecnologia desenvolvida a partir de produtos naturais com fins bactericidas. Vale aqui mencionar ainda que o grande quantitativo de publicação de artigos científicos encontrado para o pesquisador Wang Y (1167) não indica necessariamente que seja um único pesquisador detentor de todos estes trabalhos, já que vários autores apresentam a mesma abreviação e estes não são diferenciados nos bancos de dados.

### Conclusão

Existe uma grande biodiversidade em todo o mundo e várias espécies vegetais ainda não foram estudadas. Sendo assim, há necessidade ainda de mais investimentos em pesquisas e incentivos na elaboração de produtos terapêuticos, principalmente relacionados ao tratamento de infecções. Por meio da análise dos dados apresentados, fica evidente que, apesar do alto índice de publicação de artigos científicos relacionados à atividade antibacteriana de plantas medicinais, pouco se tem trabalhado no sentido do desenvolvimento de produtos tecnológicos, e menos ainda, se tem protegido tais produtos. Mudança deste cenário será de primordial importância para que as pesquisas básicas sejam direcionadas para um contexto amplo, e tornem-se as tecnologias de uso e acessíveis para a sociedade. Portanto, há uma lacuna tecnológica a ser preenchida e um campo promissor para pesquisa e desenvolvimento de inovações tecnológicas.

### Agradecimentos

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão (FAPEMA), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

### Referências

- AMOROZO, M. C. M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Levenger, MT, Brasil. *Acta bot. bras.*, v. 16, n. 2, p. 189-203, 2002.
- AMPARO, K. K. S.; RIBEIRO, M. C. O.; GUARIEIRO, L. L. N. Estudo de caso utilizando mapeamento de prospecção tecnológica como principal ferramenta de busca científica. *Perspectivas em Ciência da Informação*, v. 17, n. 4, p. 195-209, 2012.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos.** Porto Alegre: Artmed, 2001.
- FERREIRA, A. A.; GUIMARÃES, E. R.; CONTADOR, J. C. Patente como instrumento competitivo e como fonte de informação tecnológica. *Gest. Prod., São Carlos*, v. 16, n. 2, p. 209-221, 2009.
- FIRMO, W.C.A.; MENEZES, V.J.M.; PASSOS, C.E.C.; DIAS, C.N.; ALVES, L.P.L.; DIAS, I.L.; SANTOS NETO, M.; OLEA, R.S.G. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. *Cad. Pesq* v.18, p.90-95, 2011.
- FIRMO, W.C.A.; MIRANDA, M.V.; COUTINHO, G.S.L.; SILVEIRA, L.M.S.; OLEA, R.S.G. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade antibacteriana de *Lafoensia pacari* (Lythraceae). *Publ. UEPG Ci. Biol. Saúde* v.20, n.1, p.7-12, 2014.
- GEBHARDT, R. In vitro screening of plant extracts and phytopharmaceuticals: novel approaches for the elucidation of active compounds and their mechanisms. *Planta Med.*, v. 66, n. 2, p. 99-105, 2000.
- GOMES, P.R.M.; FIRMO, W.C.A.; VILANOVA, C.M. Estudo etnobotânico de plantas medicinais hipoglicemiantes no bairro Maracanã no município de São Luís, Maranhão, Brasil. *Scientia Plena*, v.10, n.9, p.1-11, 2014.
- MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JÚNIOR, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quím. Nova*, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.
- MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. *Quím. Nova*, v. 24, p.105-111, 2001.
- PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. *J. Biotec. Biodivers.*, v.3, n.4, p.146-152, 2012.
- PEREIRA, R. S.; SUMITA, T. C.; FURLAN, M. R.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. *Rev. Saúde Pública*, v. 38, n. 2, p. 326-8, 2004.
- SOARES, D. G.; ANDREAZZA, A. C.; SALVADOR, M. *Saccharomyces cerevisiae* como modelo biológico para avaliação da capacidade antioxidante de compostos. *Rev. Bras. Farm.*, v.85, n.2, p.45-47, 2004.
- VENDRUSCOLO, G. S.; MENTZ, L. A. Levantamento etnobotânico das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia, Sér. Bot.*, v. 61, n. 1-2, p. 83-103, 2006.
- VIEGAS JÚNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Quím. Nova*, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

**ANEXO D:** Produção científica durante o período de realização do doutorado**1. Artigos completos publicados em periódicos**

1. PEREIRA, L.P.L.A.; DIAS, C.N.; MIRANDA, M.V.; **FIRMO, W.C.A.**; ROSA, C.S.; SANTOS, P.F.; BRITO, M.C.A.; ARARUNA, F.O. S.; ARARUNA, F.B.; SILVA-SOUZA, N.; COUTINHO, D.F. Molluscicidal effect of *Euphorbia umbellata* (Pax) Bruyns latex on *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* host snail. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.*, 59, p. 1-5, 2017.

2. **FIRMO, W.C.A.**; MIRANDA, M.V.; OLEA, R.S.G. Caracterização do estado da arte de *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. (Lythraceae). *Natureza On Line (Espírito Santo).*, v.14, p.012-022, 2016.

3. MIRANDA, M.V.; **FIRMO, W.C.A.**; PEREIRA, L.P.L.A.; DIAS, C.N.; CASTRO, N.G.; OLEA, R.S.G.; MORAES, D.F.C.; SILVEIRA, L.M.S. Controle de Qualidade de Amostras Comerciais de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira) Adquiridas em Mercados Públicos da Cidade de São Luís-MA. *Biota Amazônia.*, v.6, p.83-90, 2016.

4. DIAS, I.C.L.; COSTA, H.D.; **FIRMO, W.C.A.**; MENDES, H.B.R.; NUNES, G.S. Prospecção científica e tecnológica sobre métodos de detecção de agrotóxicos em amostras de água. *Revista GEINTEC: gestao, inovacao e tecnologias.*, v.6, p.2874-2884, 2016.

5 GOSTINSKI, LUANA FONTOURA; COSTA, HELMARA DINIZ; **FIRMO, WELLYSON DA C.A.**; MENDES, HERMÍNIO BENÍTEZ R.; CRUZ, GUSTAVO BARBOSA V.; ALBUQUERQUE, PATRÍCIA MAIA C. Prospecção tecnológica: o uso de dispositivos de georreferenciamento para análise da distribuição e comportamento de abelhas sociais. *Cadernos de Prospecção.*, v.9, p.63-69, 2016.

6. **FIRMO, W.C.A.**; MIRANDA, M.V.; COUTINHO, G.S.L.; BARBOZA, J.R.; PEREIRA, L.P.L.A.; OLEA, R.S.G. Determinação de compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante de *Lafoensia pacari* (Lythraceae). *Revista Eletrônica de Farmácia.*, v.12, p.1-10, 2015.

7. ARAUJO, I.F.M.; SOUZA, L.F.; GUARCONI, E.A.E.; **FIRMO, W.C.A.** O comércio de plantas com propriedades medicinais na cidade de Bacabal, Maranhão, Brasil. *Natureza On Line (Espírito Santo)*, v.13, p.111-116, 2015.

8. CRUZ, GUSTAVO BARBOSA V.; MONTEIRO NETO, VALÉRIO; **FIRMO, WELLYSON DA C. A.**; COSTA, HELMARA DINIZ; MENDES, HERMÍNIO BENITEZ R.; GOSTINSKI, LUANA FONTOURA; NUNES, GILVANDA SILVA. Prospecção tecnológica de micro-organismos probióticos com atividade imunomoduladora. *Cadernos de Prospecção*, v.8, p.684-690, 2015.

9. MENDES, HERMINIO B.; **FIRMO, WELLYSON DA C. A.**; COSTA, HELMARA DINIZ; GOSTINSKI, LUANA FONTOURA; CRUZ, GUSTAVO BARBOSA V.; DIAS, ISABEL CRISTINA L.; MONTEIRO NETO, VALÉRIO. Prospecção tecnológica sobre probióticos oriundos de microrganismos presentes no leite humano. *Cadernos de Prospecção*, v.8, p.487-493, 2015.

10. **FIRMO, W.C.A.**; COSTA, H.D.; MENDES, H.B.R.; GOSTINSKI, L.F.; DIAS, I.C.L.; SABBADINI, P.S.; NUNES, G.S. Antibacterial activity of medicinal plants: an exploration technology. *Revista GEINTEC: gestao, inovacao e tecnologias*, v.4, p.1564-1573, 2014.

11. GOMES, P.R.M.; **FIRMO, W.C.A.**; VILANOVA, C.M. Estudo etnobotânico de plantas medicinais hipoglicemiantes no bairro Maracanã no município de São Luís, Maranhão, Brasil. *Scientia Plena*, v.10, p.1-11, 2014.

12. M.V., MIRANDA; **W.C.A., FIRMO**; G.S.L., COUTINHO; L.M.S., SILVEIRA; R.S.G., OLEA. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade antibacteriana de *Lafoensia pacari* (Lythraceae). *Publicatio UEPG. Ciências Biológicas e da Saúde (Online)*, v.20, p.7-12, 2014.

## **2. Resumos publicados em anais de congressos**

1. **FIRMO, W.C.A.**; SANTOS, J.S.; ARAUJO, J.M.M.; SOUZA, N.G.A.; ALVES, E.S.; COUTINHO, G.G.; NUNES, M.A.S.; SABBADINI, P.S. Antibacterial activity *in vitro* of *Vaccinium oxycoccus* (Cranberry) samples on *Corynebacterium diphtheriae*. In: 28º Congresso

Brasileiro de Microbiologia, 2015, Florianópolis. **Anais do 28º CBM 2015.**, 2015.

2. **FIRMO, W.C.A.**; SOUZA, N.G.A.; ALVES, E.S.; COUTINHO, G.G.; SANTOS, J.S.; ARAUJO, J.M.M.; SABBADINI, P.S. Atividade antibacteriana de Cranberry (*Vaccinium oxycoccus*) sobre amostras de *Corynebacterium diphtheriae*. In: III Congresso de Saúde e Bem-Estar da Universidade Ceuma, 2015, São Luís. **Anais do III Congresso de Saúde e Bem-estar da Universidade Ceuma.**, 2015. p.185-185

3. ALVES, E.S.; **FIRMO, W.C.A.**; SOUZA, N.G.A.; COUTINHO, G.G.; NUNES, M.A.S.; SABBADINI, P.S. Atividade hemaglutinante de amostras de *Corynebacterium diphtheriae* isoladas durante o surto de difteria ocorrido no Maranhão. In: I Congresso Norte/nordeste de Doenças Negligenciadas e Reemergentes, 2015, São Luís. **Revista Brasileiro de Biodiversidade e biotecnologia.**, 2015.

4. SOUZA, N.G.A.; **FIRMO, W.C.A.**; COUTINHO, G.G.; ALVES, E.S.; NUNES, M.A.S.; SABBADINI, P.S. Avaliação da produção de desoxiribonuclease por *Corynebacterium* spp isoladas no estado do Maranhão. In: I Congresso Norte/nordeste de Doenças Negligenciadas e Reemergentes, 2015, Parnaíba-PI. **Revista Brasileiro de Biodiversidade e biotecnologia.**, 2015.

5. ARAUJO, J.M.M.; ALVES, E.S.; COUTINHO, G.G.; SANTOS, J.S.; SOUZA, N.G.A.; **FIRMO, W.C.A.**; SABBADINI, P.S. Caracterização e potencial de virulência de *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*: revisão bibliográfica In: III Congresso de Saúde e Bem-Estar da Universidade Ceuma, 2015, São Luís. **Anais do III Congresso de Saúde e Bem-estar da Universidade Ceuma.**, 2015. p.177-177

6. COUTINHO, G.G.; ALVES, E.S.; SOUZA, N.G.A.; **FIRMO, W.C.A.**; NUNES, M.A.S.; ARAUJO, J.M.M.; SANTOS, J.S.; SOUZA, M.C.; RAMOS, J.N.; MARQUES, S.G.; SABBADINI, P.S. DNase activity and hemagglutinating property of *Corynebacterium* spp. In: 28º Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2015, Florianópolis. **Anais do 28º CBM 2015.** , 2015.

7. **FIRMO, W.C.A.**; SOUZA, N.G.A.; ALVES, E.S.; COUTINHO, G.G.; SABBADINI, P.S. Estudo da atividade antibacteriana in vitro do pó e suco de Cranberry (*Vaccinium oxycoccus*)

frente a amostras de *Corynebacterium diphtheriae*. In: I Congresso Norte/nordeste de Doenças Negligenciadas e Reemergentes, 2015, Parnaíba-PI. **Revista Brasileiro de Biodiversidade e biotecnologia.**, 2015.

8. MORAES, R.A.F.; **FIRMO, W.C.A.**; SANTOS, J.S.; ARAUJO, J.M.M.; SANTOS, M.C.; NUNES, M.A.S.; SABBADINI, P.S. Identificação fenotípica e formação de biofilme por amostras de corinebactérias isoladas de pacientes nosocomiais em São Luís-MA. In: III Congresso de Saúde e Bem-Estar da Universidade Ceuma, 2015, São Luís. **Anais do III Congresso de Saúde e Bem-estar da Universidade Ceuma.**, 2015. p.135-136

9. SANTOS, J.S.; ARAUJO, J.M.M.; ALVES, E.S.; SOUZA, N.G.A.; COUTINHO, G.G.; **FIRMO, W.C.A.**; SABBADINI, P.S. Perfil epidemiológico da difteria no mundo In: III Congresso de Saúde e Bem-Estar da Universidade Ceuma, 2015, São Luís. **Anais do III Congresso de Saúde e Bem-estar da Universidade Ceuma.**, 2015. p.177-178

10. ALVES, E.S.; SOUZA, N.G.A.; COUTINHO, G.G.; SANTOS, J.S.; ARAUJO, J.M.M.; **FIRMO, W.C.A.**; SABBADINI, P.S. Perfil hemaglutinante de amostras de *Corynebacterium diphtheriae* isoladas durante surto de difteria ocorrido no Maranhão. In: III Congresso de Saúde e Bem-Estar da Universidade Ceuma, 2015, São Luís. **Anais do III Congresso de Saúde e Bem-estar da Universidade Ceuma.**, 2015. p.114-114

11. **FIRMO, W.C.A.**; ARAUJO, J.M.M.; SANTOS, J.S.; SOUZA, N.G.A.; ALVES, E.S.; COUTINHO, G.G.; NUNES, M.A.S.; SABBADINI, P.S. Phytochemical evaluation and antibacterial activity of *Stryphnodendron coriaceum* Beth and *Lafoensia pacari* A.St.-Hil., face to *Corynebacterium diphtheriae* samples In: 28º Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2015, Florianópolis. **Anais do 28º CBM 2015.**, 2015.

12. SOUZA, N.G.A.; COUTINHO, G.G.; ALVES, E.S.; SANTOS, J.S.; ARAUJO, J.M.M.; **FIRMO, W.C.A.**; SABBADINI, P.S. Produção de desoxirribonuclease por *Corynebacterium* spp isoladas no estado do Maranhão. In: III Congresso de Saúde e Bem-Estar da Universidade Ceuma, 2015, São Luís. **Anais do III Congresso de Saúde e Bem-estar da Universidade Ceuma.**, 2015. p.131-132

13. COUTINHO, G.G.; **FIRMO, W.C.A.**; ALVES, E.S.; SOUZA, N.G.A.; SABBADINI,

P.S. Revisão sobre a atividade de plantas medicinais em *Corynebacterium* spp. In: III Congresso de Saúde e Bem-Estar da Universidade Ceuma, 2015, São Luís. **Anais do III Congresso de Saúde e Bem-estar da Universidade Ceuma.**, 2015. p.65-66

14. COUTINHO, G.G.; **FIRMO, W.C.A.**; ALVES, E.S.; SOUZA, N.G.A.; SABBADINI, P.S. Revisão sobre o papel das plantas medicinais frente à *Corynebacterium* spp. In: I Congresso Norte/nordeste de Doenças Negligenciadas e Reemergentes, 2015, Parnaíba-PI. **Revista Brasileiro de Biodiversidade e biotecnologia.**, 2015.

15. NUNES, M.A.S.; SOUSA, E.M.; MONTEIRO, S.G.; **FIRMO, W.C.A.**; ALVES, E.S.; COUTINHO, G.G.; SOUZA, N.G.A.; SPERANZA, F.A.B.; BORGES, L.L.G.; HIRATA JUNIOR, R.; MATTOS-GUARALDI, A.L.; SABBADINI, P.S. Seroprevalence of diphtheria toxoid IgG antibodies in children in Maranhão, Brazil In: 28º Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2015, Florianópolis. **Anais do 28º CBM 2015.**, 2015.

16. ROSA, C.S.; **FIRMO, W.C.A.**; CARVALHEDO, L.F.; CARDOSO, H.L.M.; LOPES NETO, J.J.; MORAES, D.F.C. Prospecção fitoquímica e atividade frente as larvas de *Aedes aegypti* das folhas de *Mouriri pusa* Gardner In: XXII Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, 2014, Goiania. **Anais do XXII Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil.** Goiania: Sociedade Brasileira de Plantas Mediciniais, 2014. v.1. p.54-54.

### 3. Apresentação de trabalhos

1. **FIRMO, W.C.A.**; SABBADINI, P.S. **Bioprospecção da atividade antibacteriana e fitoquímica de *Stryphnodendron coriaceum* Benth e *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. sobre amostras de *Corynebacterium diphtheriae***, 2016. (Outra, Apresentação de Trabalho).

2. **FIRMO, W.C.A.**; SANTOS, J.S.; ARAUJO, J.M.M.; SOUZA, N.G.A.; ALVES, E.S.; COUTINHO, G.G.; NUNES, M.A.S.; SABBADINI, P.S. **Antibacterial activity in vitro of *Vaccinium oxycoccus* (Cranberry) samples on *Corynebacterium diphtheriae***, 2015. (Congresso, Apresentação de Trabalho).

3. **FIRMO, W.C.A.**; SOUZA, N.G.A.; ALVES, E.S.; COUTINHO, G.G.; SANTOS, J.S.; ARAUJO, J.M.M.; SABBADINI, P.S. **Atividade antibacteriana de Cranberry (*Vaccinium***

*oxycoccus*) sobre amostras de *Corynebacterium diphtheriae*, 2015. (Congresso, Apresentação de Trabalho).

4. ALVES, E.S.; **FIRMO, W.C.A.**; SOUZA, N.G.A.; COUTINHO, G.G.; NUNES, M.A.S.; SABBADINI, P.S. **Atividade hemaglutinante de amostras de *Corynebacterium diphtheriae* isoladas durante o surto de difteria ocorrido no Maranhão**, 2015. (Congresso, Apresentação de Trabalho).

5. SOUZA, N.G.A.; **FIRMO, W.C.A.**; COUTINHO, G.G.; ALVES, E.S.; NUNES, M.A.S.; SABBADINI, P.S. **Avaliação da produção de desoxirribonuclease por *Corynebacterium* spp isoladas no estado do Maranhão**, 2015. (Congresso, Apresentação de Trabalho).

6. ARAUJO, J.M.M.; ALVES, E.S.; COUTINHO, G.G.; SANTOS, J.S.; SOUZA, N.G.A.; **FIRMO, W.C.A.**; SABBADINI, P.S. **Caracterização e potencial de virulência de *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*: revisão bibliográfica**, 2015. (Congresso, Apresentação de Trabalho).

7. COUTINHO, G.G.; ALVES, E.S.; SOUZA, N.G.A.; **FIRMO, W.C.A.**; NUNES, M.A.S.; ARAUJO, J.M.M.; SANTOS, J.S.; SOUZA, M.C.; RAMOS, J.N.; MARQUES, S.G.; SABBADINI, P.S. **DNase activity and hemagglutinating property of *Corynebacterium* spp.**, 2015. (Congresso, Apresentação de Trabalho).

8. **FIRMO, W.C.A.**; SOUZA, N.G.A.; ALVES, E.S.; COUTINHO, G.G.; SABBADINI, P.S. **Estudo da atividade antibacteriana in vitro do pó e suco de Cranberry (*Vaccinium oxycoccus*) frente a amostras de *Corynebacterium diphtheriae***, 2015. (Congresso, Apresentação de Trabalho).

9. MORAES, R.A.F.; **FIRMO, W.C.A.**; SANTOS, J.S.; ARAUJO, J.M.M.; SANTOS, M.C.; NUNES, M.A.S.; SABBADINI, P.S. **Identificação fenotípica e formação de biofilme por amostras de corinebactérias isoladas de pacientes nosocomiais em São Luís-MA**, 2015. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

10. SANTOS, J.S.; ARAUJO, J.M.M.; ALVES, E.S.; SOUZA, N.G.A.; COUTINHO, G.G.; **FIRMO, W.C.A.**; SABBADINI, P.S. **Perfil epidemiológico da difteria no mundo**, 2015.

(Congresso, Apresentação de Trabalho).

11. ALVES, E.S.; SOUZA, N.G.A.; COUTINHO, G.G.; SANTOS, J.S.; ARAUJO, J.M.M.; **FIRMO, W.C.A.**; SABBADINI, P.S. **Perfil hemaglutinante de amostras de *Corynebacterium diphtheriae* isoladas durante surto de difteria ocorrido no Maranhão, 2015.** (Congresso, Apresentação de Trabalho).

12. **FIRMO, W.C.A.**; ARAUJO, J.M.M.; SANTOS, J.S.; SOUZA, N.G.A.; ALVES, E.S.; COUTINHO, G.G.; NUNES, M.A.S.; SABBADINI, P.S. **Phytochemical evaluation and antibacterial activity of *Stryphnodendron coriaceum* Beth and *Lafoensia pacari* A.St.-Hil., face to *Corynebacterium diphtheriae* samples, 2015.** (Congresso, Apresentação de Trabalho).

13. SOUZA, N.G.A.; COUTINHO, G.G.; ALVES, E.S.; SANTOS, J.S.; ARAUJO, J.M.M.; **FIRMO, W.C.A.**; SABBADINI, P.S. **Produção de desoxirribonuclease por *Corynebacterium* spp isoladas no estado do Maranhão, 2015.** (Congresso, Apresentação de Trabalho).

14. COUTINHO, G.G.; ALVES, E.S.; SOUZA, N.G.A.; **FIRMO, W.C.A.**; SABBADINI, P.S. **Revisão sobre a atividade de plantas medicinais em *Corynebacterium* spp., 2015.** (Congresso, Apresentação de Trabalho).

15. COUTINHO, G.G.; **FIRMO, W.C.A.**; ALVES, E.S.; SOUZA, N.G.A.; SABBADINI, P.S. **Revisão sobre o papel das plantas medicinais frente à *Corynebacterium* spp, 2015.** (Congresso, Apresentação de Trabalho).

16. NUNES, M.A.S.; SOUSA, E.M.; MONTEIRO, S.G.; **FIRMO, W.C.A.**; ALVES, E.S.; COUTINHO, G.G.; SOUZA, N.G.A.; SPERANZA, F.A.B.; MONTEIRO, L.L.G.; HIRATA JUNIOR, R.; MATTOS-GUARALDI, A.L.; SABBADINI, P.S. **Seroprevalence of diphtheria toxoid IgG antibodies in children in Maranhão, Brazil, 2015.** (Congresso, Apresentação de Trabalho).

17. OLIVEIRA, T.M.; MORAES, R.A.F.; **FIRMO, W.C.A.**; NUNES, M.A.S.; SANTOS, L.S.; RAMOS, J.N.; COSME, L.M.S.S.; SABBADINI, P.S. **Análise da capacidade de**

**formação de biofilme de amostras de *Corynebacterium diphtheriae* isoladas durante o surto de difteria ocorrido no Maranhão, 2014.** (Outra, Apresentação de Trabalho).

18. **FIRMO, W.C.A.; OLIVEIRA, J.J.; NUNES, M.A.S.; MORAES, R.A.F.; SANTANNA, L.O.; SABBADINI, P.S. Avaliação da atividade antibacteriana in vitro de Cranberry (*Vaccinium oxycoccus*) frente a amostras de *Corynebacterium diphtheriae* isoladas no estado do Maranhão, 2014.** (Outra, Apresentação de Trabalho).

19. **NUNES, M.A.S.; BORGES, L.L.G.; FIRMO, W.C.A.; OLIVEIRA, T.M.; MATTOS-GUARALDI, A.L.; SOUSA, E M.; MONTEIRO, S.G.; SABBADINI, P.S. Avaliação dos níveis de anticorpos protetores contra a difteria em crianças atendidas em unidade de saúde de São Luís-MA, 2014.** (Outra, Apresentação de Trabalho).

20. **COSTA, H.D.; FIRMO, W.C.A.; GOSTINSKI, L.F.; MOREIRA, L.R.M.O.; MENDES, H.B.R.; MARQUES, E.P.; MARQUES, A.L.B.; BANDEIRA, M.G.A. Metodologia analítica para determinação de enxofre em biodiesel: uma prospecção tecnológica, 2014.** (Congresso, Apresentação de Trabalho).

21. **ALVES, A.K.B.; OLIVEIRA, C.K.F.; SILVA, M.M.; CASTRO, V.M.; FIRMO, W.C.A. O uso de plantas medicinais para o tratamento de enteroparasitoses pelas comunidades Aningal e Pato do município de Monção, 2014.** (Outra, Apresentação de Trabalho).

22. **ROSA, C.S.; FIRMO, W.C.A.; SILVA, P.R.; CARVALHEDO, L.F.; CARDOSO, H.L.M.; LOPES NETO, J.J.; MORAES, D.F.C. Prospecção fitoquímica e atividade frente as larvas de *Aedes aegypti* das folhas de *Mouriri pusa* Gardner, 2014.** (Simpósio, Apresentação de Trabalho)

23. **FIRMO, W.C.A.; CRUZ, G.B.V.; MONTEIRO NETO, V.; COSTA, H.D.; MENDES, H.B.R.; GOSTINSKI, L.F.; NUNES, G.S. Prospecção tecnológica de micro-organismos probióticos com atividade imunomoduladora, 2014.** (Congresso, Apresentação de Trabalho).

24. **COSTA, H.D.; GOSTINSKI, L.F.; FIRMO, W.C.A.; MENDES, H.B.R.; CRUZ, G.B.V.; ALBUQUERQUE, P.M.C. Prospecção tecnológica: o uso de dispositivo de**

**georreferenciamento para análise da distribuição e comportamento de abelhas sociais**, 2014. (Congresso, Apresentação de Trabalho).

25. FIRMO, W.C.A.; MENDES, H.B.R.; COSTA, H.D.; GOSTINSKI, L.F.; CRUZ, G.B.V.; DIAS, I.C.L.; MONTEIRO NETO, V. **Prospecção tecnológica sobre probióticos oriundos de microrganismos presentes no leite humano**, 2014. (Congresso, Apresentação de Trabalho).

#### **4. Capítulos de livros publicados**

1. DIAS, I.C.L.; **FIRMO, W.C.A.** Aspectos em biotecnologia: a inovação e suas aplicações In: Estudos em biotecnologia e inovação tecnológica: subsídios para o desenvolvimento sustentável. 1 ed. : Novas Edições Acadêmicas, 2014, p. 9-30.

#### **5. Co-orientação de alunas de iniciação científica e de mestrado do Laboratório de Doenças Bacterianas Respiratórias e Sistêmicas da Uniceuma**

\*Co-orientação dos trabalhos de iniciação científica, intitulados (i) “Potencial patogênico de amostras de *Corynebacterium striatum* isoladas de pacientes nosocomiais em São Luís-MA”, da aluna Nicolly Guerra Amorim de Souza (ii) “O papel das plantas medicinais sobre *Corynebacterium spp*”, da aluna Gabrielle Guedes Coutinho e (iii) “Potencial patogênico de amostras de *Corynebacterium amycolatum* isoladas de pacientes nosocomiais em São Luís-MA” da aluna Eldimara Santos Alves, as últimas alunas são bolsistas pela Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA).

\*Co-orientação dos trabalhos de mestrado, intitulados (i) “Perfil de virulência de amostras de *Corynebacterium diphtheriae* isoladas durante o surto de difteria ocorrido no Maranhão” da aluna Jéssica Silva dos Santos; (ii) “Análise do perfil de sensibilidade aos agentes antimicrobianos e do potencial patogênico de amostras de *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* isoladas de pacientes nosocomiais em São Luís-MA” da aluna Jéssica Mayara Mendes Araújo, ambas bolsistas pela Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA).