



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMAS AGROINDUSTRIAIS
MESTRADO EM SISTEMAS AGROINDUSTRIAIS**

VERUSA FERNANDES DUARTE

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, AÇÃO ANTIBACTERIANA E MODULADORA DA
FOLHA DA CAJAZEIRA (*Spondias mombin* L.) SOBRE ENTEROBACTÉRIAS
DIARREIOGÊNICAS**

**POMBAL-PB
2021**

VERUSA FERNANDES DUARTE

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, AÇÃO ANTIBACTERIANA E MODULADORA DA FOLHA DA CAJAZEIRA (*Spondias mombin* L.) SOBRE ENTEROBACTÉRIAS DIARREIOGÊNICAS

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais (PPGSA) do Centro de Ciência e Tecnologia Agroalimentar (CCTA), *Campus* de Pombal da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito para conclusão do Curso.

Área de Concentração: Sistemas Agroindustriais

Linha de Pesquisa: Ciência e Tecnologia de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. José Cezario de Almeida

Co-Orientador: Prof. Dr.Sc. Antônio Fernandes Filho

POMBAL-PB
2021

D812c

Duarte, Verusa Fernandes.

Composição química, ação antibacteriana e moduladora da folha da cajazeira (*Spondias mombin* L.) sobre enterobactérias diarreio gênicas / Verusa Fernandes Duarte. - Pombal, 2021.

48 f. : il. Color

Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, 2021.

"Orientação: Prof. Dr. José Cezario de Almeida, Prof. Dr. Antônio Fernandes Filho".

Referências.

1. *Spondias mombin* L.
2. Ação Antibacteriana.
3. Enterobactérias.
4. Diarreio gênicas. I. Almeida, José Cezario de. II. Fernandes Filho, Antônio. II. Título.

CDU 634.442(043)

VERUSA FERNANDES DUARTE

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, AÇÃO ANTIBACTERIANA E MODULADORA DA FOLHA
DA CAJAZEIRA (*Spondias mombin* L.) SOBRE ENTEROBACTÉRIAS
DIARREIOGÊNICAS

Aprovado em: 06/08/2021.

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. José Cezario de Almeida
Orientador/ PPGSA/ UFCG

Prof. Dr.^a Sc. Patrício Borges
Maracajá
Examinador Interno/PPGSA/UFCG

Prof. Dr. Sc. Antônio Fernandes
Filho
Co-Orientador/ PPGSA/ UFCG

“O conhecimento emerge apenas através da invenção e da reinvenção, através da inquietante, impaciente, contínua e esperançosa investigação que os seres humanos buscam no mundo, com o mundo e uns com os outros.”

Paulo Freire

A minha inteira gratidão a meu irmão,
Antônio Fernandes Filho, por ser luz e
guia em minha caminhada, particularmente,
na minha carreira profissional.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar presente em todos os momentos da minha vida, por toda força, ânimo e coragem que me ofereceu para superar todas as dificuldades.

Aos meus pais, Antônio Fernandes Sobrinho (*in memoriam*) e Maria Ivanilde Duarte Fernandes que me educaram com todo zelo e dedicação, são eles os responsáveis pelo meu caráter, pelos valores de respeito, honestidade e humildade a mim repassados.

Aos meus irmãos, por acreditarem em mim, que na minha ausência, sempre fizeram entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação a presente.

Ao meu filho, João Gabriel, por me tornar uma fortaleza e leoa, sou só gratidão à Deus pelo presente de ser sua mãe.

Aos meus sobrinhos, sobrinhas, afilhados e agregados que ainda jovens e crianças por compreenderem as minhas ausências, e fazer parte de tudo àquilo que faz sentido para mim. A meu orientador professor Dr. Sc. José Cezário de Almeida, pelos ensinamentos, pela paciência e disponibilidade em orientar-me. Muito obrigada professor.

A Normando e Kelly secretários do mestrado campus da UFCG Pombal, pela maneira de me tratar todas as vezes que o procurei. Muito obrigada!

Ao Centro de Formação de Professores da Universidade Federal de Campina Grande, por todo apoio na realização desta pesquisa.

DUARTE, V. F. **Composição química, ação antibacteriana e moduladora da folha da cajazeira (*Spondias mombin* L.) sobre enterobactérias diarreio gênicas.** Dissertação de Mestrado. (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) - Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar. Universidade Federal de Campina Grande. Pombal - PB, 2021.

RESUMO

A diarreia é a ocorrência de três ou mais evacuações amolecidas ou líquidas no período de 24 horas. Os agentes infecciosos são os mais importantes causadores dos quadros da diarreia aguda. Com isso, múltiplos extratos vegetais estão sendo estudados, dentre eles, merece destaque a espécie *Spondias mombin* L., popularmente conhecido por cajá, cujas folhas apresentam atividade antimicrobiana. Assim, o estudo objetiva avaliar a expressão *in vitro* do extrato hidroalcoólico do *Spondias mombin* L. (Cajá) sobre enterobactérias diarreio gênicas. Metodologicamente, a presente pesquisa consiste em sê-la do tipo exploratória, que segue o procedimento técnico experimental com abordagem quantitativa. Esta pesquisa foi desenvolvida em parceria com os *Campi* de Pombal e de Cajazeiras da Universidade Federal de Campina Grande. As folhas obtidas diretamente das plantas de Cajá, foram pesadas, maceradas e em seguida submetidas a solução hidroalcoólica na concentração de 1:1 por 72 horas. Em seguida a solução foi filtrada e o álcool evaporado. Os experimentos foram realizados com as linhagens padrões de Enterobactérias de linhagens diarreio gênicas, todas foram obtidas da coleção de microrganismos do Laboratório de Microbiologia do Centro de Formação de Professores (CFP/UFCG). Para avaliar a atividade moduladora da ação antibiótica das enterobactérias (*E. coli*, *Salmonella* e *Shigella*) foi utilizado o antibiótico Benzetacil (B), Ciprofloxacino (C) e inóculo com a amostra (A). Os dados foram expressos em valores de média \pm erro padrão da média. Os resultados apontaram que após o período de 24 horas em estufa BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio), observou-se por meio de coloração com nimesulida, que os antibióticos apresentaram eficácia diante da bactéria *E. coli*, entretanto, a amostra analisada não apresentou potencial para o controle do microrganismo. Na etapa seguinte utilizou-se o CIM/8, compondo inóculo, amostra e antibiótico, onde após 24 horas realizou-se a coloração com nimesulida, demonstrando que a amostra apresentava ação antagonista com a eficácia do antibiótico, permitindo a perda da eficácia do medicamento.

Palavras-chave: Ação Antibacteriana. *Spondias mombin* L. Enterobactérias Diarreio gênicas.

DUARTE, V. F. **Chemical composition, antibacterial and modulating action of the cajazeira leaf (*Spondias mombin* L.) on diarrheal enterobacteria.** Masters dissertation. (Master in Agroindustrial Systems) - Center for Science and Agrifood Technology. Federal University of Campina Grande. Pombal - PB, 2021.

ABSTRACT

Diarrhea is the occurrence of three or more soft or liquid bowel movements within 24 hours. Infectious agents are the most significant cause of acute diarrhea. With this, multiple plant extracts are being studied; among them, the species *Spondias mombin* L., popularly known as cajá, whose leaves have antimicrobial activity, deserves special mention. Thus, this study aims to report the *in vitro* expression of the hydroalcoholic extract of *Spondias mombin* L. (Cajá) on enterobacteria and irrigation agents. Methodologically, it is exploratory research, which follows an experimental technical procedure with a quantitative approach. It was performed in partnership with the campuses of Pombal and Cajazeiras of the Federal University of Campina Grande. The Cajá leaves were weighed, macerated, and immersed in a hydroalcoholic solution in a concentration of 1:1 for 72 hours. Then the solution was filtered, and the alcohol evaporated. The experiments were carried out with the standard Enterobacteria lineages from diarrheal lineages, all obtained from the collection of microorganisms from the Microbiology Laboratory of the Teacher Training Center (CFP / UFCG). The antibiotic, Benzetacil (B), Ciprofloxacin (C), and inoculum with the sample (A) were used to assess the modulating activity of enterobacteria (*E. coli*, *Salmonella* and *Shigella*). The data were expressed as mean values and \pm standard error. The results showed that after 24-hour period in a Bio-Oxygen Demand (BOD) oven, it was observed through staining with Nimesulide that the antibiotics were effective against the *Escherichia coli* bacteria. However, the analyzed sample did not show potential for the control of the microorganism. The CIM / 8 was used in the next stage, composing inoculum, sample, and antibiotic. After 24 hours, the staining with Nimesulide was performed, demonstrating that the sample had an antagonist action with the antibiotic effectiveness, allowing the loss of the effectiveness of the medication.

Keywords: Antibacterial action. *Spondias mombin* L. Diarrheal enterobacteria.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características físicas e químicas do cajá

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Avaliação do estado de hidratação para crianças com doença diarreia

Quadro 2: Esquema de distribuição dos antibióticos em modulação para *P. aeruginosa* (ATCC 27853)

Quadro 3: Principais classes de antibióticos, seus respectivos mecanismos de ação e alguns representantes

Quadro 4. Exemplos de medicamentos obtidos a partir de produtos naturais

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. *Escherichia coli*

Figura 2: Início do teste - Inóculo com os antibióticos (B - BENZETACIL e C - CIPROFLOXACINO) e Inóculo com a amostra (A)

Figura 3: Início do teste - Inóculo com os antibióticos (B - BENZETACIL e C - CIPROFLOXACINO) e Inóculo com a amostra (A)

Figura 4: Início do teste - Inóculo com os antibióticos (B - BENZETACIL e C - CIPROFLOXACINO) e Inóculo com a amostra (A)

Figura 5: Início do teste - Inóculo com os antibióticos (B - BENZETACIL e C - CIPROFLOXACINO) e Inóculo com a amostra (A)

Figura 6: Início do teste - Inóculo com os antibióticos (B - BENZETACIL e C - CIPROFLOXACINO) e Inóculo com a amostra (A)

Figura 7: Crescimento bacteriano ao ser inoculado a Benzetacil (B) e o Ciprofloxacino (C) na placa

Figura 8: Crescimento bacteriano ao ser inoculado a Benzetacil (B) e o Ciprofloxacino (C) na placa

Figura 9: Crescimento bacteriano ao ser inoculado a Benzetacil (B) e o Ciprofloxacino (C) na placa

Figura 10: Crescimento bacteriano ao ser inoculado a Benzetacil (B) e o Ciprofloxacino (C) na placa

Figura 11: Utilização do CIM/8 comendo inóculo, amostra e antibiótico (B - BENZETACIL e C - CIPROFLOXACINO)

LISTA DE ABREVIATURA, SIGLAS E SÍMBOLOS

BHI – Brain Heart Infusion

C° - Celsius

CBM - Concentração Bactericida Mínima

CE – Ceará

CFP – Centro de Formação de Professores

CIM – Concentração Inibitória Mínima

EMB – Ágar Eosina Azul de Metileno

EMO – Extrato da Moringa oleífera

ICS – Infecções da Corrente Sanguínea

IRAS – Infecções Relacionadas à assistência à Saúde

LAM – Lamarck

L/min – Litros por Minuto

LPS – Lipolissacarídeos

m³/min – Metros cúbicos por Minuto

µg/ml – Microgramas por mililitros

mL – Mililitros

ml/h – Milímetros Cúbicos por Hora

MMC – Concentração Mínima Microbicida

PB – Paraíba

UFPB – Universidade Federal da Paraíba

UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

UTI – Unidade de Terapia Intensiva

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS (DIARREIA AGUDA, DIARREIA EM CRIANÇAS) ..	16
3.2 PATOGENICIDADE DE <i>E. coli</i> DE LINHAGENS DIARREICAS	20
3.3 ANTIBIOTICOTERAPIA E RECURSOS NATURAIS.....	24
3.4 CARACTERIZAÇÃO DO CAJÁ <i>Spondias mombin L.</i>	29
4 METODOLOGIA.....	31
4.1 TIPO DE ESTUDO.....	31
4.2 LOCAL DE ESTUDO	31
4.3 OBTENÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO.....	31
4.3.1 Preparação do Extrato	32
4.4 ATIVIDADE CONTRA BACTÉRIAS	32
4.4.1 Microrganismos	32
4.4.2 Antibióticos.....	32
4.4.3 Concentração Inibitória Mínima – CIM	32
4.4.4 Modulação.....	33
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
4.6 IMPACTO REGIONAL	35
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
REFERÊNCIAS.....	44

1 INTRODUÇÃO

Há um consenso para definição de diarreia, que é a ocorrência de três ou mais evacuações amolecidas ou líquidas nas últimas 24 horas (MORAIS et al., 2017). Em países em desenvolvimento estima-se que, dois terços dos óbitos infantis evitáveis são atribuídos às diarreias, contribuindo para o quadro de perdas de crianças em torno de quatro milhões de mortes anuais. Apesar dos avanços nas áreas da medicina e do saneamento, a diarreia ainda é considerada um problema rotineiro da saúde pública (SILVA, HELLER, CARNEIRO, 2012). No Brasil, registrou-se importante declínio na mortalidade infantil na atual década, com 15 óbitos por mil nascidos vivos, em relação à década de 1970 que expressava 70 óbitos por mil nascidos vivos (MORAIS et al., 2017).

Há evidências etiológicas observadas através dos diversos sintomas atribuídos às diarreias, distinguindo-se por seus respectivos fatores de risco e determinadas variáveis, que compõem uma complexa cadeia causal. Todavia, a morbidade é utilizada como o indicador epidemiológico de maior importância para a saúde pública, pois sua ocorrência está associada ao conjunto de fatores e aspectos socioeconômicos, culturais, nutricionais e ambientais, respondendo diversamente às alterações das condições de saneamento, qualidade sanitária dos alimentos, hábitos higiênicos e comportamentais (MAIA-ARAÚJO et al., 2011).

A ocorrência da diarreia é determinada pela suscetibilidade do organismo infantil e pelo grau de exposição aos enteropatógenos, essencialmente dependentes pelo acesso a água tratada, saneamento ambiental e estado nutricional da criança, constituindo de especial importância a prática do aleitamento materno (MENEGUESSI et al., 2015). A OMS se baseia na anamnese da criança com doença diarreica para contemplar os seguintes quadros: duração da diarreia, número diário de evacuações, presença de sangue nas fezes, número de episódios de vômitos, presença de febre ou outra manifestação clínica, práticas alimentares prévias e vigentes, outros casos de diarreia em casa ou na escola, avaliando-se, também, a oferta e o consumo de líquidos, o uso de medicamentos e o histórico de imunizações, além de informação sobre a diurese e peso recente se conhecido (WHO, 2005).

De acordo com a OMS (2005), a doença diarreica pode ser classificada em três categorias: i) diarreia aguda aquosa, ii) diarreia aguda com sangue (disenteria) e iii) diarreia persistente. No Brasil os dados da Monitorização das Doenças Diarreicas Agudas (MDDA), fonte do Ministério da Saúde nos anos 2000 a 2012, foram notificados mais de 33 milhões de

casos, tendo a Região Nordeste apresentado o maior número, 39%, e a Região Sul, 9% (SILVA, HELLER, CARNEIRO, 2012).

Os agentes infecciosos que são os mais importantes causadores dos quadros da diarreia aguda, destacam-se em mais de vinte enteropatógenos virais, bacterianos e parasitários diretamente associados à diarreia aguda, entre os quais, o *Rotavírus* e a bactéria *Escherichia coli*, referenciados como os principais agentes episódios de diarreia aguda em crianças; em seguida, referenciam-se os agentes bacterianos *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni/coli*, *Vibrio cholerae*, *Aeromonas* spp. e *Plesiomonas* spp., de prevalência e ocorrência comumente em territórios de baixo poder econômico; e outro importante grupo infeccioso representado por protozoários e helmintos, registrados em áreas de precarização de saneamento ambiental (ALMEIDA, 2012; CASTRO et al., 2019).

Atualmente, múltiplos extratos vegetais estão sendo estudados (MAGALHÃES et al. 2020). Dentre eles merece destaque a espécie *Spondias mombin* L., popularmente conhecida por cajá, cujas folhas apresentam, dentre outras características, componentes (compostos fenólicos, flavonoides, saponinas e taninos) com atividade antimicrobiana. Essa espécie possui ampla distribuição nas regiões brasileiras, com maior expressão no Nordeste e Norte. Como fonte nutricional, o fruto do cajá tem vitaminas A, B1, B2 e C, e minerais de cálcio, fósforo, potássio, além de carotenoides e taninos, cujos produtos são utilizados na culinária brasileira, produção de polpas, sucos, picolés, sorvetes, néctares e geleias (MAYER, 2017).

Estudos com *S. mombin* demonstraram resultados promissores, como efeitos antimicrobiano, antiedematogênica e antiviral. *In vitro*, os extratos aquosos e etanólico de folhas de cajazeiras inibiram o crescimento bacteriano, o que garante o uso dessa espécie como antibacteriano. A atividade antimicrobiana do cajá acontece mediante a presença do derivado de ácido anarcádico, isolado das folhas da cajazeira que possui a capacidade de inibir a β -lactamase, atividade atribuída também ao ácido clavulânico, antibacteriano comercialmente conhecido (LIMA, 2016; LUCENA, 2017).

O potencial dessa importante planta deve ser explorado em benefício da saúde pública, especialmente como alternativa aos tratamentos dos eventos diarreicos em crianças. Assim, estudos *in vitro* devem ser apresentados inicialmente como essa perspectiva. Esta pesquisa propõe-se revelar a expressão *in vitro* do extrato hidroalcoólico da *Spondias mombin* L. (Cajá) sobre enterobactérias diarreio gênicas.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar a expressão *in vitro* do extrato hidroalcoólico da *Spondias mombin* L. (Cajá) sobre agentes enterobactérias eiarreioigências.

2.2 ESPECÍFICOS

- ✓ Revelar a atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico do Cajá (*Spondias mombin* L.) sobre bactérias que causam diarreias em crianças menores de dois anos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS (DIARREIA AGUDA, DIARREIA EM CRIANÇAS)

A diarreia pode ser definida pela ocorrência de três ou mais evacuações amolecidas ou líquidas no intervalo de 24 horas. O desequilíbrio entre as fases de absorção e a secreção de líquidos e eletrólitos ocorre na diarreia aguda. De acordo com a OMS (2005) e conforme infere (MORAIS 2013), a doença diarreica classifica-se em três categorias:

i) diarreia aguda aquosa, com extensão de duração de até 14 dias, com evidente perda de grande volume de fluidos, podendo seguir de desidratação, e na maioria dos casos, causada por vírus ou bactérias. A desnutrição eventualmente pode ocorrer se a alimentação não é fornecida de forma adequada e se episódios sucessivos acontecem.

ii) diarreia aguda com sangue, caracterizada por disenteria, com a presença de sangue nas fezes, pela lesão na mucosa intestinal. Pode associar-se com infecção sistêmica e outras complicações, incluindo desidratação. O agente etiológico de maior incidência é a bactéria do gênero *Shigella*.

iii) diarreia persistente, consiste no tipo diarreico que ultrapassa os 14 dias de diarreia aguda, com consequências que provocam desnutrição e desidratação. Nesse quadro persistente, o grupo de crianças tem alto risco de complicações e elevada letalidade.

Morais et al. (2017) e Magalhães (2020) relatam que os agentes infecciosos causadores da maioria dos quadros da diarreia aguda, são os vírus: rotavírus, coronavírus, adenovírus, calicivírus, norovírus e astrovírus. Dentre as bactérias, destacam-se a *E. coli* enteropatogênica clássica, *E. coli* enterotoxigenica, *E. coli* enterohemorrágica, *E. coli* enteroinvasiva, *E. coli* enteroagregativa; *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia*; os parasitos: *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium*, *Isospora* e a levedora *Candida albicans*.

Todavia, os agentes infecciosos que são os mais importantes causadores dos quadros da diarreia aguda, destacam-se mais de vinte enteropatógenos virais, bacterianos e parasitários diretamente associados à diarreia aguda, entre os quais, o *Rotavírus* e a bactéria *Escherichia coli*, referenciados como os principais agentes episódios de diarreia aguda em crianças; em seguida, referenciam-se os agentes bacterianos *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni/coli*, *Vibrio cholerae*, *Aeromonas* spp. e *Plesiomonas* spp., de prevalência e ocorrência comumente em territórios de baixo poder econômico; e outro importante grupo infeccioso representado por

protozoários e helmintos, registrados em áreas de precarização de saneamento ambiental (ALMEIDA, 2012; CASTRO et al., 2019).

As doenças diarreicas agudas infecciosas têm grande importância para a saúde pública, por causa da maior frequência na população, além de ter uma grande relevância epidemiológica no mundo, sendo uma das principais causas de morbimortalidade infantil, principalmente nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento. Segundo Santos et al. (2014), a incidência da doença diarreica em adultos hospitalizados é entre 5% a 70%; essa variabilidade está associada às diferentes definições adotadas para diagnosticar diarreia. O principal sinal de manifestação do agravo é o aumento do número de evacuações, com fezes aquosas ou de pouca consistência, durante 24 horas ou mais. Assim, ocasiona consequências fisiopatológicas graves como a desidratação e desnutrição, com impacto no desenvolvimento pântero-estatural e intelectual (BÜHLER et al., 2014; ARAÚJO et al., 2010; SANTOS et al., 2014).

Conforme o que foi descrito por Bühler et al. (2014), a desidratação e desnutrição dificultam o ganho de peso e altura nas crianças, e pode ocasionar retardo no intelecto infantil. A pobreza é um importante aspecto quanto a progressão da evolução clínica aguda e fatal do processo saúde-doença na população infantil, mesmo sendo determinada por múltiplas causas. A morbimortalidade por diarreia infantil está condicionada ao baixo nível socioeconômico da população, sendo este um dos principais fatores, que influencia as condições de saneamento básico precário e comportamento higiênico pessoal e doméstico insatisfatório. Estima-se que aproximadamente 10,5 milhões de crianças menores de 05 anos morrem todo ano nos países mais pobres, por doenças infecciosas e parasitárias, principalmente pneumonia, diarreia, sarampo e AIDS/HIV.

Para Araújo et al. (2010), as doenças diarreicas agudas possuem causas diversificadas, podendo ser provocadas por bactérias, vírus ou enteroparasitas. Desde a descoberta dos primeiros agentes virais que, especificamente, causam diarreia no homem, em 1972, estudos epidemiológicos têm revelado um número significativo de casos de diarreia aguda atribuídos à etiologia viral. Dentre os principais vírus causadores da doença, destacam-se: rotavírus, calicivírus humanos (norovírus e sapovírus), astrovírus, adenovírus entéricos. Nos países de clima temperado, as infecções são mais frequentes nos meses mais frios, enquanto nos tropicais ocorrem ao longo do ano. A infecção acontece em todas as idades, inclusive em recém-nascidos, nos quais é frequentemente assintomática. Está associado a 30-50% dos casos de diarreia grave e aproximadamente a um terço das hospitalizações por diarreia, contribuindo com 111.000.000 episódios anualmente em todo o mundo, com 800.000 mortes.

No que concerne a questão epidemiológica, Loureiro et al. (2010) diz que por ano as doenças diarreicas provocam cerca de 2,5 milhões de mortes em crianças menores de 5 anos de idade, sendo a maioria de países em desenvolvimento. O desmame precoce, o baixo nível educacional e as más condições de saneamento ambiental são fatores predisponentes para a doença diarreica. Com base em Vaz (2017), o Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (Datasus) mostra que no Brasil, em 2013, foram registradas mais de 60 mil internações por diarreia em crianças com até quatro anos de idade, e ocorreram 88 óbitos. Essas internações totalizaram custos aos cofres públicos de mais de 20 milhões de reais.

Em países em desenvolvimento estima-se que dois terços dos óbitos infantis evitáveis são atribuídos às diarreias, contribuindo para o quadro de perdas de crianças em torno de quatro milhões de mortes anuais. Apesar dos avanços nas áreas da medicina e do saneamento, a diarreia ainda é considerada um problema rotineiro da saúde pública (SILVA, HELLER, CARNEIRO, 2012). No Brasil, registrou-se importante declínio na mortalidade infantil na atual década, com 15 óbitos por mil nascidos vivos em relação à década de 1970 que expressava 70 óbitos por mil nascidos vivos (MORAIS et al., 2017).

A diarreia é a segunda causa de internação hospitalar infantil, precedida apenas pelas infecções respiratórias, consideradas a principal causa de mortalidade infantil. Entre 2000 e 2010, foram notificados 29.491.078 casos de doenças diarreicas agudas no Brasil, sendo que somente a Região Norte apresentou, em 2006, 33 casos por 1.000 nascidos vivos e, em 2009, na Região Sudeste, a incidência foi de 15 casos por 1.000 nascidos vivos (SANTOS et al., 2015).

De acordo com Portela et al. (2011), 25 milhões de mortes por ano no terceiro mundo são devido a doenças transmitidas pela água. Na Paraíba, no período de 2001 a 2005, foram registrados 7.453 óbitos em menores de 05 anos dos quais 335 (4,5%) foram por Doença Diarréica Aguda (DDA). As mortes causadas por diarreia podem ser evitadas, através de melhorias de abastecimento de água, como também o saneamento básico, pois através disso há uma redução na exposição de agentes patogênicos que causam diarreias.

Segundo Loureiro et al. (2010), os principais agentes etiológicos da diarreia aguda, são: rotavírus, calicivírus, astrovírus, *Escherichia coli* diarreio gênicas, *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum* e *Cyclospora cayetanensis*. No Brasil, é dada uma ênfase maior para as infecções intestinais causadas pelas *E. coli* diarreio gênicas, por rotavírus, por *Cryptosporidium* e *Entamoeba histolytica*. A maioria das diarreias bacterianas requer medidas de intervenção voltadas apenas à aplicação da correção de sintomas e do desequilíbrio hidroeletrólítico.

A hidratação é fundamental nos casos de diarreia, algumas condições podem ser observadas durante a avaliação clínica, como exposto no Quadro 1, proposto pela OMS e adotada pelo Ministério da Saúde (MS):

Quadro 1. Avaliação do estado de hidratação para crianças com doença diarreia

Observar	A	B	C
Condição	Bem alerta	Irritado, inquieto	Comatoso, hipotônico
Olhos	Normais	Fundos	Muito fundos
Lágrimas	Presentes	Ausentes	Ausentes
Boca e língua	Úmidas	Secas	Muito secas
Sede	Bebe normalmente	Sedente, bebe rápido e avidamente	Bebe mal ou não é capaz de beber
Examinar			
Sinal da prega	Desaparece rapidamente	Desaparece lentamente	Desaparece muito lentamente (mais de 2 segundos)
Pulso	Cheio	Rápido, débil	Muito débil ou ausente
Enchimento capilar	Normal (até 3 segundos)	Prejudicado (3 a 5 segundos)	Muito prejudicado (mais de 5 segundos)*
Conclusão	Não tem desidratação	Se apresentar dois ou mais dos sinais descritos acima, existe desidratação	Se apresentar dois ou mais dos sinais descritos, incluindo pelo menos um dos assinalados com asterisco, existe desidratação grave
Tratamento	Plano A Tratamento domiciliar	Plano B Terapia de reidratação oral no serviço de saúde	Plano C Terapia de reidratação parenteral

Fonte: Sociedade Brasileira de Pediatria (2014, p. 4).

De acordo com a Sociedade Portuguesa de Gastrenterologia (2015), o exame físico é importante para determinar a severidade da diarreia e não a sua causa. Com isso, a função primordial do tratamento da diarreia é assegurar a reposição de fluidos e eletrólitos. A maioria

dos casos de diarreia aguda é autolimitada, sendo apenas necessário um tratamento sintomático com fluidos e alteração da dieta. Os fármacos antidiarreicos devem ser utilizados com precaução nos doentes com diarreia sanguinolenta, febre e distensão do cólon. A utilização de antibioterapia deve ser considerada nos casos de diarreia severa, sendo recomendada uma quinolona oral (ciprofloxacina 500mg duas vezes dia ou levofloxacina 500mg/dia), durante 3-5 dias. Azitromicina 500mg/dia durante 3 dias ou eritromicina 500mg duas vezes por dia durante 5 dias, são os antibióticos alternativos.

3.2 PATOGENICIDADE DE *E. coli* DE LINHAGENS DIARREICAS

A família *Enterobacteriaceae* é composta por um grupo grande e heterogêneo de bacilos Gram-negativos e se caracterizam por serem anaeróbios facultativos, fermentadores, reduzem o nitrato a nitrito, não apresentam citocromo oxidase e crescem rapidamente numa variedade de meios de cultura seletivos ou não. Os membros da família *Enterobacteriaceae* são amplamente distribuídos no solo, em vegetais, na água e encontrados como componentes da microbiota do trato digestório de animais e seres humanos (WOLLHEIM, 2009).

Das cinco espécies do gênero *Escherichia*, a mais conhecida é a *Escherichia coli* descoberta, em 1895, pelo bacteriologista alemão Theodore Escherich, o qual descreveu o microrganismo que se encontrava nas fezes humanas que foi nomeado de *Bacterium coli commune*. Somente em 1945, Bray associou essa bactéria à diarreia infantil e a denominou *Bacterium coli neapolitanum*. Em 1950, os microbiologistas fizeram uma homenagem ao “descobridor” dessa bactéria e passaram a denominá-la *Escherichia coli* (Figura 1) (MARTINS, 2010).

A *Escherichia coli* são bactérias Gram negativas, fermentativas, anaeróbias facultativas, cultivadas facilmente em meios de cultura de rotina. A via de transmissão de *E. coli* diarreiogênica é fecal-oral por meio de água e alimentos contaminados (COURA; LAGE; HEINEMANN, 2014). Torres (2017), diz que pelo menos seis diferentes patovares de *E. coli* foram associados a doença diarreica e cada uma delas usa diferentes fatores de virulência para subverter as funções celulares do hospedeiro e potencializar sua virulência, o que resulta em manifestações clínicas distintas. Para Caliman (2010), dentre as afecções provocadas por esse tipo de bactéria, pode-se destacar: meningite neonatal, septicemia, infecções do trato urinário, e diarreia que pode se manifestar tanto de forma branda, autolimitante, quanto caracterizar quadros muito graves como a colite hemorrágica e a síndrome hemolítica urêmica.

Figura 1. *Escherichia coli*



Fonte: Martins (2010, p. 41).

Costa et al. (2010), atrelam-se a essa discussão e explicam que as *Escherichia coli* diarreio gênicas representam importante causa de diarreia endêmica e epidêmica no mundo. Porém provavelmente a frequência desses patógenos é subestimada, devido sua detecção exigir métodos diagnósticos específicos que não são utilizados na prática clínica. A identificação de *E. coli* diarreio gênicas requer sua diferenciação das espécies não patogênicas da microbiota intestinal. As *E. coli* que causam diarreia são classificadas em categorias patogênicas de acordo com fatores de virulência específicos, codificados por cromossomos, plasmídios e DNA de bacteriófagos. Esses fatores de virulência fornecem a cada categoria uma capacidade de causar síndrome clínica com características epidemiológicas e patológicas distintas.

Wollheim (2009) explica que a *E. coli* desperta um grande interesse científico, em virtude dos estudos da *E. coli* K12 (e seus derivados) parte dos conhecimentos sobre metabolismo intermediário, recombinação genética, replicação do DNA, transcrição do RNA, síntese e exportação de proteínas e da patogenicidade das bactérias. Como sabemos a *E. coli* faz parte da microbiota intestinal de indivíduos saudáveis, causando infecções extra-intestinais e intestinais, tanto em pessoas saudáveis como em imunocomprometidos. Para uma melhor compreensão, há pelo menos seis variedades de *E. coli* diarreio gênicas denominadas: (1) ETEC - *E. coli* enterotoxigênica; (2) EHEC - *E. coli* enterohemorrágica (O157:H7); (3) EIEC - *E. coli* enteroinvasiva; *E. coli* enteroaderente com três subtipos distintos: (4) EPEC - *E. coli* enteropatogênica; (5) EaggEC - *E. coli* enteroagregativa e; (6) DAEC - *E. coli* difusamente aderente.

Quanto à linhagem patogênica da *E. coli*, Martins (2010), destaca o grupo, os sorotipos, as características de adesão e invasão, as toxinas e os sintomas provocados pela doença.

Quadro 2: Esquema de distribuição dos antibióticos em modulação para *P. aeruginosa* (ATCC 27853)

Grupo	Sorogrupos	Características de adesão e invasão	Toxinas	Sintomas da doença
ETEC	O6, O8, O15, O20, O27, O63, O78, O80, O85, O115, O128, O139, O148, O153, O159, O167	Aderem uniformemente, mas não invadem	Termolábeis (LT) Termoestáveis ST A LT é similar à toxina colérica e age nas células da mucosa	Diarreia do tipo colérica, mas geralmente menos grave
EPEC	O18, O44, O55, O86, O111, O112, O114, O119, O125, O126, O127, O128, O142	Aderem em grupos, Invadem células hospedeiras, ligam e desaparecem	Não aparentes. Induz uma lesão característica (A/E) nas células epiteliais	Diarreia, vômitos
EIEC	O124, O43, O152	Invadem células do cólon. Propagam-se lateralmente às células adjacentes	Nenhuma toxina semelhante à shiga toxina detectada	Propagação célula-célula e doenças similares à disenteria. Febre e diarreias profusas
EHEC	O26, O46, O48, O91, O98, O112, O146, O157, O165	Aderem fortemente Ligam e invadem	Verotoxinas do tipo shigatoxinas (VTEC ou STEC)	Diarreia com sangue. Colite Hemorrágica. Pode progredir para síndrome urêmica hemolítica (HUS) e para púrpura trombocitopênica.

EaggEC	Sorogrupos ligados a surtos recentes: O62, O73, O134	Aderem em grupos, mas não invadem	Toxinas semelhantes a toxina ST. Hemolisinas. Verotoxinas relatadas em algumas linhagens	Diarreia. Algumas linhagens têm sido relacionadas à síndrome urêmica hemolítica (HUS)
---------------	--	-----------------------------------	--	---

Fonte: Martins (2010, p. 62).

A *Escherichia coli* diarreio gênica apresenta uma distribuição que varia de um país para o outro, mas a *E. coli* enterohemorrágica (ECEH, incluindo *E. coli* O157:H7) é o agente que mais comumente causa patologia nos países em desenvolvimento. Os diferentes tipos de *E. coli* podem provocar sintomas distintos nos indivíduos, por exemplo, a *E. coli* enterotoxigênica (ECET) provoca a diarreia do viajante; a *E. coli* enteropatogênica (ECEP) rara vez provoca diarreia em adultos; a *E. coli* enteroinvasiva (ECEI) provoca diarreia sanguinolenta e mucoide (disenteria), é comum sentir febre; a *E. coli* enterohemorrágica (ECEH) provoca diarreia sanguinolenta, colite hemorrágica severa e síndrome hemolítico-urêmica em 6–8% dos casos; o gado é o principal reservatório de infecção. Nas crianças, pode-se observar que a *E. coli* enteroagregativa (ECEAg) provoca diarreia aquosa em crianças pequenas, diarreia persistente em crianças e adultos com vírus da imunodeficiência humana (HIV); a *E. coli* enterotoxigênica (ECET) provoca diarreia em lactentes e crianças em países em desenvolvimento; e a *E. coli* enteropatogênica (ECEP) afeta principalmente as crianças menores de 2 anos (WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION, 2012).

Conforme Torres (2017), a *E. coli* enteropatogênica (EPEC) é um dos mais antigos e mais bem caracterizados patovares diarreicos, isolada em um grupo, causa diarreia aquosa persistente em crianças de todo o mundo. As EPECS isoladas pertencem a um número limitado de sorotipos O:H, sabe-se que elas transportam o *Locus of Enterocyte Effacement* (LEE), uma região que codifica várias proteínas que mediam a interação com as células do hospedeiro e as informações de uma lesão distinta conhecida como *attaching and effacing* (A/E). Além disso, as cepas de EPEC podem conter um plasmídeo de virulência chamado de fator de aderência de EPEC (EAF), pois ele codifica os produtos genéticos envolvidos na síntese e montagem do pilus formador de feixes (*bfp*) tipo IV e também não tem os genes que codificam a produção de toxina Shiga (*stx*).

A *E. coli* enteropatogênica (EPEC), está epidemiologicamente relacionada à diarreia infantil, afeta geralmente crianças de até dois anos e é considerada de alta morbidade em países pobres, podendo inclusive apresentar uma mortalidade elevada. As bactérias aderem à membrana plasmática do enterócito e causam destruição das microvilosidades adjacentes. A lesão é denominada —*attaching and effacing* e é caracterizada pela degeneração dos enterócitos e leve inflamação da lâmina própria. As infecções causadas por ETEC acometem principalmente crianças em países em desenvolvimento e viajantes destas áreas, cepas ETEC são responsáveis por 380.000 mortes anuais. Os principais sintomas incluem fezes aquosas, vômitos, náuseas e cólicas intestinais (CALIMAN, 2010).

As cepas STEC são caracterizadas por causar diarreia sanguinolenta, acometendo prevalentemente crianças e idosos em países desenvolvidos. Também podem causar lesões tipo —*attaching-effacing* no intestino grosso, e nos casos mais severos, necrose. Os sintomas clínicos incluem: cólica abdominal e diarreia inicialmente aquosa que progride para hemorrágica. Em países desenvolvidos é uma das principais causas relacionadas à diarreia associada à síndrome hemolítica urêmica, podendo ocorrer em 2 a 7 % dos indivíduos acometidos. As infecções por EIEC ocorrem em humanos de todas as idades, sendo mais comum em países menos desenvolvidos. A principal patologia consiste na inflamação e erosão da mucosa, principalmente no intestino grosso. A *E. coli* enteroagregativa (EAEC) apresenta distribuição epidemiológica semelhante à ETEC, acometendo principalmente crianças de países em desenvolvimento e viajantes destas áreas, está relacionada à AIDS associada à diarreia (CALIMAN, 2010).

Ainda de acordo com o estudo de Caliman (2010), a *E. coli* difusoaderente (DAEC) está relacionada com diarreia em crianças com mais de um ano de idade. A *E. coli* patogênica extraintestinal (ExPEC) se trata de cepas caracterizadas por causar doenças em outros sítios corporais que não o intestinal. Sob este acrônimo estão reunidas as cepas uropatogênicas (causam infecção no trato urinário), também chamadas UPEC (*Uropathogenic E. coli*); as cepas associadas à sepse e as associadas à meningite neonatal, portanto capazes de colonizar e produzir doença nos mais variados sítios anatômicos.

3.3 ANTIBIOTICOTERAPIA E RECURSOS NATURAIS

As cepas de *E. coli* tem se tornado uma grave preocupação na saúde pública, visto que, além da virulência, essas bactérias estão resistentes a antimicrobianos, principalmente diante da

evidência de que antibióticos exercem uma pressão seletiva tanto em bactérias patogênicas quanto nas comensais da microbiota (CALIMAN, 2010).

Os antibióticos são substâncias químicas, naturais ou sintéticas cuja finalidade é impedir a proliferação de bactérias ou causar a sua destruição, e que se usado de forma racional apresenta menor risco de toxicidade. O termo antimicrobiano engloba todas as substâncias químicas com atividade sobre os diferentes microrganismos, sendo que os antibióticos ou antibacterianos atuam contra bactérias, os antivirais sobre os vírus, os antifúngicos atuam nos fungos, e os antiparasitários sobre os parasitas (SANTOS et al. 2017).

Bekai (2010), descreve que a antibioticoterapia é provavelmente a mais bem-sucedida forma de controle de doenças infecciosas desenvolvida no século XX. As descrições iniciais acerca do uso de agentes antimicrobianos são datadas de 3000 anos, quando os médicos chineses usavam bolores para tratar tumores inflamatórios e feridas infectadas. Há, porém, uma grande confusão ao redor dos termos “antibiótico” e “antimicrobiano”.

O conceito original de Waksman, estabelecido em 1942, diz que os antibióticos são substâncias extraídas de seres vivos, geralmente microscópicos (microrganismos) e que tem ação antimicrobiana. São metabólitos microbianos que em baixas concentrações são capazes de inibir o crescimento de outros microrganismos. Essa inibição pode ser permanente, ou seja, quando a substância é capaz de matar a célula microbiana. Nesse caso são utilizados os termos “bactericida” ou “fungicida”. A inibição também pode ser temporária, agindo somente enquanto o antibiótico está presente, inibindo o crescimento e reprodução do microrganismo. Nesse caso utiliza-se o termo “bacteriostático” (BEKAI, 2010).

As principais classes de antibióticos, seus respectivos mecanismos de ação e alguns representantes estão apresentados no Quadro 3.

Quadro 3: Principais classes de antibióticos, seus respectivos mecanismos de ação e alguns representantes

CLASSES	SUBCLASSES		MECANISMO DE AÇÃO	REPRESENTANTES
		Benzilpenicilinas	Bactericidas: Interferem com a	Penicilina Pen. G Procáina Pen. Benzatina
		Aminopenicilinas		Ampicilina Amoxicilina*

β lactâmicos	Penicilinas	P. R. penicilinas	síntese da parede bacteriana	Oxacilina
		P. de amplo espectro		Carboxipenicilinas
	Cefalosporina	1ª Geração		Cefalexina* Cefalotina
		2ª Geração		Cefoxitina* Cefaclor
		3ª Geração		Ceftriaxona
		4ª Geração		Cefepima
	Carbapenens			Imipenem Meropenem
	Monobactams			Aztreonam
Quinolonas	Quinolonas (anos 60)		Bactericidas: Inibição da DNA girase bacteriana	Ác. Nalidíxico
	Fluoroquinolonas (anos 80)			Ciprofloxacina
Glicopeptídeos		Inibição de síntese proteica, de RNA m, alteração da permeabilidade MP	Vancomicina* Teicoplanina	
Oxazolidinonas		Inibição da síntese proteica	Linezolida	

Fonte: Bortoloti (2016, p. 23).

Bortoloti (2016) ainda explica que alguns antibióticos têm amplo espectro, ou seja, são aqueles que atuam simultaneamente contra vários tipos de bactérias e por isso possibilitam o tratamento antes mesmo da identificação do microrganismo, no entanto, possuem a desvantagem de agir também contra a microbiota normal do hospedeiro. Por isso, a escolha do antimicrobiano mais indicado deve-se levar em consideração aquele que apresente, simultaneamente, maior eficácia, menor efeito colateral, baixo custo e baixa capacidade de induzir, por pressão seletiva, a resistência.

A resistência aos antimicrobianos é entendida por Sousa (2014) como sendo um fenômeno genético às mudanças no seu ambiente, relacionando-se à presença de genes contidos

no microrganismo que codifica diferentes mecanismos bioquímicos e impedem a ação da droga, com isto é importante que a sociedade reflita sobre a disseminação de microrganismos resistentes, proveniente do mal uso dos antimicrobianos pelos médicos.

Lucena (2017) explica que o aumento na demanda por novos antimicrobianos levou a várias investigações em direção a busca de efeitos antimicrobianos de fitoquímicos extraídos de uma variedade de espécies de origem botânica. Muita atenção tem sido dada aos produtos naturais, que tem ganhado espaço nas pesquisas relacionadas com atividade antimicrobiana, depois de ter sido comprovada sua ação. Além disso, esse conhecimento tem sido de real importância para laboratórios farmacêuticos no desenvolvimento de novas drogas, já que esses vegetais têm grandes chances de apresentarem baixo custo e fácil acesso na região onde tais espécies são encontradas, promovendo assim benefícios de promoção da saúde.

Segundo Ferreira; Lourenço; Baliza (2014), pesquisa etnobotânica e etnofarmacológica registra e documenta o conhecimento tradicional e a informação sobre os usos empíricos das plantas, os quais estão em franco processo de desaparecimento. A Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece o valor dos trabalhos etnobotânicos, além de estimular as comunidades a identificar suas próprias tradições em relação às terapias, e explorar práticas seguras e eficazes para posterior utilização em cuidados primários de saúde.

É importante salientar que o estudo etnobotânico é um trabalho multidisciplinar e envolve biólogos, engenheiros florestais, engenheiros agrônomos, antropólogos, médicos, químicos e demais profissionais. No Brasil e em vários outros países, os diversos trabalhos etnobotânicos proporcionam o conhecimento das espécies que são utilizadas, servindo como instrumento para delinear estratégias de utilização e conservação das espécies nativas e seus potenciais. Vale salientar que o Brasil abriga em seu território uma das floras mais ricas do globo, da qual 99,6% são desconhecidas quimicamente. Na saúde pública, estas informações etnobotânicas quando comprovadas cientificamente, podem ser utilizadas pela sociedade podendo ser mais acessível em relação ao custo/benefício (SILVA, 2012).

Fonseca e Pereira (2004), dizem que as plantas são capazes de produzir diferentes substâncias tóxicas em grandes quantidades, atuando diretamente para sua defesa contra vírus, bactérias, fungos e animais predadores. Tais substâncias vêm sendo estudadas e caracterizadas. Segundo os autores mencionados, de acordo com a OMS, aproximadamente 80% da população utilizam medicamentos à base de produtos naturais no alívio de alguma sintomatologia desagradável. Há uma riqueza muito grande na flora brasileira, estimada em 120 mil espécies, das quais apenas 1% tem sido estudada, do ponto de vista fitoquímico ou farmacológico.

Apesar do desenvolvimento nas áreas de síntese orgânica, microbiologia industrial, biologia molecular, parte dos fármacos permanece sendo obtida a partir de matérias-primas vegetais. A natureza evoluiu ao longo do tempo para produzir uma grande diversidade de metabólitos secundários. Os extratos de produtos naturais foram os primeiros, e durante muito tempo, os únicos medicamentos disponíveis para a humanidade. Produtos naturais representam uma fonte rica em compostos biologicamente ativos e são um exemplo de diversidade molecular, com grande potencial na descoberta e desenvolvimento de medicamentos (BEKAI, 2010; ÁVILA, 2008).

Para compreender melhor o fármaco, o uso terapêutico e a fonte, o Quadro 4 listará de forma ilustrativa os fármacos com importância terapêutica atual, obtidos exclusivamente de matérias-primas naturais.

Quadro 4. Exemplos de medicamentos obtidos a partir de produtos naturais

Fármaco	Classe terapêutica	Fonte
Artemisina	Antimalárico	<i>Artemisia annua L.</i>
Atropina	Anticolinérgico	<i>Atropina belladonna L.</i>
Bacitracina	Antibacteriano	<i>Bacillus licheniformis</i>
Capsaicina	Anestésico tópico	<i>Capsicum spp.</i>
Captopril	Antihipertensivo	<i>Bothrops jararaca</i>
Ciclosporina	Imunossupressor	<i>Tolypocladium inflatum</i>
Colchicina	Antirreumático	<i>Colchicum autumnale L.</i>
Digoxina, digitoxina	Insuficiência cardíaca	<i>Digitalis purpurea</i>
Equinocandina	Antimicótico	<i>Aspergillus nidulans</i>
Escopolamina	Antiparkinsoniano	<i>Datura spp.</i>
Estatinas	Tratamento das dislipidemias	<i>Aspergillus terreus</i>
Krestin	Antitumoral	<i>Coriolus versicolor</i>
Lentinam	Antitumoral	<i>Lentinus edodes</i>
Morfina, codeína	Analgésico, antitussígeno	<i>Papaver somniferum L</i>
Paclitaxel	Câncer (ovário)	<i>Taxus brevifolia</i>
Penicilina	Antibacteriano	<i>Penicillium chrisogenum</i>

Pilocarpina	Antiglaucomatoso	<i>Pilocarpus jaborandi</i> Holmes
Quinina	Antimalárico	<i>Cinchona</i> spp.
Reserpina	Anti-hipertensivo	<i>Rauwolfia</i> spp.
Shizophyllan	Antitumoral	<i>Schizophyllum commune</i>
Tubocurarina	Bloqueador neuromuscular	<i>Chondodendron tomentosum</i>
Vidarabina	Antiviral	<i>Streptomyces antibioticus</i>
Vimblastina, vincristina	Antitumorais	<i>Catharantus roseus</i> G. Don

Fonte: Adaptado Bekai (2010, p. 27); Ávila (2008, p. 24).

Ávila (2008), pondera que em diversos trabalhos que visam demonstrar atividade antibacteriana de produtos naturais, são descritos diferentes métodos para detectar tal atividade. Esses métodos não são igualmente sensíveis ou baseados sob o mesmo princípio. Consequentemente, os resultados obtidos também passam a ser profundamente influenciado não somente pelo método selecionado, mas também pelos microrganismos usados para fazer o teste e pelas características de solubilidade de cada substância em estudo.

3.4 CARACTERIZAÇÃO DO CAJÁ *Spondias mombin* L.

A família *Anacardiaceae* engloba diversas espécies, possuindo aproximadamente 81 gêneros e 800 espécies. No Brasil, estão catalogados 14 gêneros com 57 espécies, sendo 14 espécies endêmicas. Entre as espécies frutíferas importantes destacam-se as do gênero *Spondias*, como por exemplo, *Spondias mombin* L. (cajazeira), *Spondias purpurea* L. (siriguelira), *Spondias cytherea* Sonn. (cajaraneira), *Spondias tuberosa* Arr. Câm. (umbuzeiro) e *Spondias* spp. (umbu-cajá e umbuguela) (SILVINO. SILVA; SANTOS, 2017; SANTOS et al., 2018).

Falando em especial da cajazeira (*Spondias mombin* L.), essa planta trata-se de uma árvore frutífera é distribuída em todo o território brasileiro, sendo o seu fruto conhecido por diversos nomes regionais, incluindo taperebá na Amazônia, pequeno cajá no sudeste, cajámirim no sul, ou simplesmente cajá no nordeste. Essa espécie possui flores hermafroditas, estaminadas e pistiladas, com aparente ocorrência de protandria, o que propicia a polinização cruzada e a variabilidade genética nos pomares de plantas oriundas de sementes (SOARES et al., 2006; MAYER, 2017).

Tendo por base Menezes (2011), a semente do cajá é claviforme e reniforme, medindo 1,2cm de comprimento e 0,2 de largura, com dois tegumentos de consistência membranácea, coloração creme e superfície lisa. As frutas são importantes para a saúde humana, contribuindo para o fornecimento de calorias, sais minerais, vitaminas, fibras e água. As características físico-químicas de frutas de uma determinada espécie variam de acordo com o fator genético, a época da colheita, o estágio de maturação e tratos culturais. A físico-química da cajazeira tem aproximadamente: 82,7% de umidade, 6,78% de açúcares redutores, 0,001% de Ca^{2+} e 1,13g de fibras, a Tabela 1 descreverá algumas dessas características.

Tabela 1: Características físicas e químicas do cajá.

Caracteres	Quantidade
Fruto (g)	8,3 a 21,9
Casca (g)	0,9 a 2,9
Casca %	8,4 a 18,7
Endocarpo (g)	2,0 a 4,4
Endocarpo %	15,7 a 31,1
Polpa (g)	6,0 a 14,6
Polpa %	56,0 a 73,3
Valor energético (cal/100g)	21,8 a 70,0
Carboidratos (cal/100g)	8,7 a 13,8
Proteínas	0,8 a 1,4
Lipídeos (cal/100g)	0,1 a 2,1
Fibras (cal/100g)	1,0 a 1,2
Cinzas (cal/100g)	0,6 a 0,7
pH potenciômetro	2,4 a 3,0
Sólidos solúveis em brix a 20°C (cal/100g)	11,4 a 15,0
Ácido total (ac. Cítrico) g/100g	0,9 a 1,6
Açúcares redutores g/100g	6,1 a 10,8
Cálcio (mg/100g)	26,0 a 31,4
Fósforo (mg/100g)	31,0 a 40,0

Ferro (mg/100g)	2,2 a 2,8
Ácido ascórbico (mg/100g)	11,0 a 166,0
Pró-vitamina A (µg/100g)	70,0 a 71,0
Tiamina (mg/100g)	0,08 a 0,09
Riboflavina (mg/100g)	0,05 a 0,06
Niacina (mg/100g)	0,5

Fonte: Adaptação Menezes (2011, p. 29).

Com relação ao fruto da cajazeira, Silvino. Silva; Santos (2017), destacam que ele é extremamente aromático, o seu comprimento e o peso são considerados fatores importantes na escolha de frutos destinados as indústrias, como a de sucos. O cajá tem um aspecto funcional relevante, pois possui elevado teor de carotenoides, vitamina C e taninos, os quais podem ser atuar como substâncias antioxidantes colaborando para o aumento do consumo e interesse das indústrias alimentícias que o utiliza como matéria-prima.

Com base em Lima (2016), as cascas do caule de *S. mombin* L. têm efeito abortivo, podendo ser utilizados também como antídoto em picadas de serpentes e como substâncias eméticas. As folhas são indicadas na forma de gargarejos como adstringentes para inflamações na cavidade oral e na garganta. O uso terapêutico também pode ocorrer em casos de prostatite, herpes labial, uretrite, cistite e conjuntivite, além de serem usados como antidepressivos, antiborrifacientes, e no tratamento de doenças venéreas e tumores.

Medeiros et al. (2012), acrescentam que o chá das folhas da cajazeira é utilizado há bastante tempo, por suas propriedades anti-virótica. Isolados das folhas e talos desta espécie demonstraram atividade pronunciada contra os vírus Herpes simples tipo 1 e Cocksackie B2, e atividade antibacteriana contra *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes* e *Mycobacterium fortuitum*.

Segundo Mayer (2017), explica que em estudos *in vitro*, os extratos aquosos e etanólicos de folhas de *S. mombin* inibiram o crescimento bacteriano. A atividade antibacteriana do cajá ocorre pela presença do derivado de ácido anarcádico, outros compostos secundários foram isolados das folhas e cascas desta espécie, identificados como ácido 2-O-cafeicol-(+)-alohidroxicítrico e butil éster de ácido clorogênico, que demonstraram considerável atividade antiviral, bem como o ácido elágico e a quercetina, isolados das folhas, que apresentaram atividade antiviral contra o vírus da dengue tipo 2.

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DE PESQUISA

A presente pesquisa consiste em um estudo do tipo exploratória, que segue o procedimento técnico experimental com abordagem quantitativa. O método experimental delinea-se, especialmente, ao submeter os objetos de estudo à influência de certas variáveis, que em condições controladas e conhecidas pelo investigador apropria-se da observação dos resultados que a variável produz no objeto. Tem sido referido na literatura que parte significativa dos conhecimentos obtidos nos últimos três séculos se deve ao emprego do método experimental, que pode ser considerado como o método por excelência das ciências naturais (PRADONOV; FREITAS, 2013).

4.2 LOCAL DA PESQUISA

Esta pesquisa foi desenvolvida em parceria com os *Campi* de Pombal e de Cajazeiras da Universidade Federal de Campina Grande. Em Cajazeiras, teve-se o suporte do Laboratório de Microbiologia, Parasitologia e Patologia do Centro de Formação de Professores (CFP) da UFCG, onde foram desenvolvidos os ensaios *in vitro*, propiciando os testes e obtenção dos resultados.

4.3 OBTENÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO

O material botânico para obtenção das folhas da planta cajazeiras (Cajá) foi abundantemente coletado na diversa população da planta existente havia mais de três décadas na área do Campus de Cajazeiras.

O local onde essas plantas existem na cidade Cajazeiras representa uma importante amostragem das condições do Semiárido nordestino, região onde a planta cajazeiras tem profícua adaptação, sendo frondosas em determinadas épocas do ano, florescem e produzem seus frutos, denominados “Cajá”, o principal produto de consumo humano. Sua folhagem, casca é bastante espessa, e suas flores não são de uso comum da população, porém, são apreciadas por animais bovinos. Nesse estudo, o material utilizado foi a folhagem, que após coletada foi submetida às

técnicas científicas de extração de produto aquoso para verificação de sua atividade antibacteriana.

4.3.1 Preparação do extrato

As folhas obtidas diretamente das plantas de Cajá, foi pesada, macerada e em seguida submetida a solução hidroalcoólica na concentração de 1:1 por 72 horas. Em seguida a solução será filtrada e o álcool evaporado. A secagem do extrato foi realizada através da técnica de *spray drying* (secagem por atomização) com o uso do equipamento *Mini-spray dryer* MSDi 1.0 (Labmaq do Brasil), utilizando bico aspensor de 1,2 mm, nas seguintes condições operacionais: a- controle de fluxo: 500 mL/h; b) temperatura de entrada: $120\pm 2^\circ\text{C}$; c) temperatura de saída: $74\pm 2^\circ\text{C}$; d) vazão de ar de atomização: 45 L/min; e) vazão do soprador: $1,4\text{ m}^3/\text{min}$. O processo de secagem por atomização consiste na mudança de um produto que se encontra no estado fluido para o estado sólido em forma de pó, através de sua passagem em um meio aquecido, numa operação contínua (MASTERS, 1991).

4.4 ATIVIDADE CONTRA BACTÉRIAS

4.4.1 Microrganismos

Os experimentos serão realizados com as linhagens padrões de Enterobactérias de linhagens diarreio gências, todas obtidas da coleção de microrganismos do Laboratório de Microbiologia do Centro de Formação de Professores (CFP/UFCG). Os estoques de culturas serão mantidos em *Agar Heart Infusion* (HIA) e armazenados em refrigerador.

4.4.2 Antibióticos

Para avaliar a atividade moduladora da ação antibiótica das enterobaterias (*E. coli*, *Salmonella* e *Shigella*) foi utilizado o antibiótico, ciprofloxacino.

4.4.3 Concentração Inibitória Mínima – CIM

A concentração inibitória mínima (CIM $\mu\text{g/mL}$) será determinada em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI 10%) pelo método de microdiluição, usando uma suspensão de 105 (Unidade Formadora de Colônia) UFC/mL (para escala de Mcfarland 0,5) e uma concentração do EHFCC 1024 $\mu\text{g/mL}$ diluída sequencialmente pelo título 1:2 (JAVADPOUR et al., 1996). Seguindo os ensaios, será preparado o meio de distribuição em tubos estéril utilizado 100 μL do inóculo em 900 μL do meio de cultura líquido BHI. Posteriormente o conteúdo do tubo será transferido para placa de microdiluição de 96 poços, em sentido horizontal. Será utilizado 100 μL em cada poço, perfazendo 10 poços. Após essa etapa, será realizada a microdiluição das substâncias sendo 100 μL nesse meio até penúltima cavidade (1:1). Na última cavidade não será adicionada por ser o controle de crescimento. As concentrações variaram de 1024 $\mu\text{g/mL}$ a 2 $\mu\text{g/mL}$. Após 24h foi realizado a leitura das placas por visualização de mudança de cor do meio caracterizado pela adição de 20 μL de resazurina (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona 10-óxido). A leitura desse experimento tem como característica a mudança de cor do meio de azul para vermelho indicando a presença de crescimento bacteriano, e a permanência em azul à ausência de crescimento. A CIM será definida como a menor concentração na qual nenhum crescimento for observado. E servirá para a avaliação das substâncias como moduladoras da resistência aos antibióticos, a concentração subinibitória será determinada pelo CIM/8 para PA-ATCC9027 e PA15. Os testes serão realizados em triplicata.

4.4.4 Modulação

Para avaliar a atividade moduladora da ação de antibióticos os testes serão realizados em triplicata. Cada poço da placa de microdiluição conterá o extrato da própolis vermelha em concentração subinibitória de forma constante e os antibióticos em concentrações decrescentes, partindo de 2500 $\mu\text{g/mL}$, diluídas sequencialmente 1:2 até 2,4 $\mu\text{g/mL}$, sendo misturadas em caldo BHI 10%, este preparado com água destilada estéril. Em cada poço será adicionado 100 μL de caldo BHI 10% como 128 $\mu\text{g/mL}$ do extrato da própolis vermelha que será definida e inóculo bacteriano (105 UFC/mL). No primeiro poço será adicionado 100 μL de uma solução do antibiótico com 5000 $\mu\text{g/mL}$ procedendo a diluição sequencial com título 1:2 nos poços seguintes. As placas serão incubadas a 37°C e lidas depois de 24h, com revelação pela resazurina como descrito na determinação do CIM. O teste foi realizado em triplicata.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos em valores de média e \pm erro padrão da média. A diferença entre os grupos será avaliada pela análise de variância de uma via (ANOVA). Quando o valor de F for significativo, comparações *post hoc* foram feitas pelo teste de Newman-Keuls. As análises foram realizadas usando *GraphPad Prism* versão 5.0 (*GraphPad Software*, San Diego, EUA). Valores de $P < 0,05$ serão considerados estatisticamente significantes.

4.6 IMPACTO REGIONAL

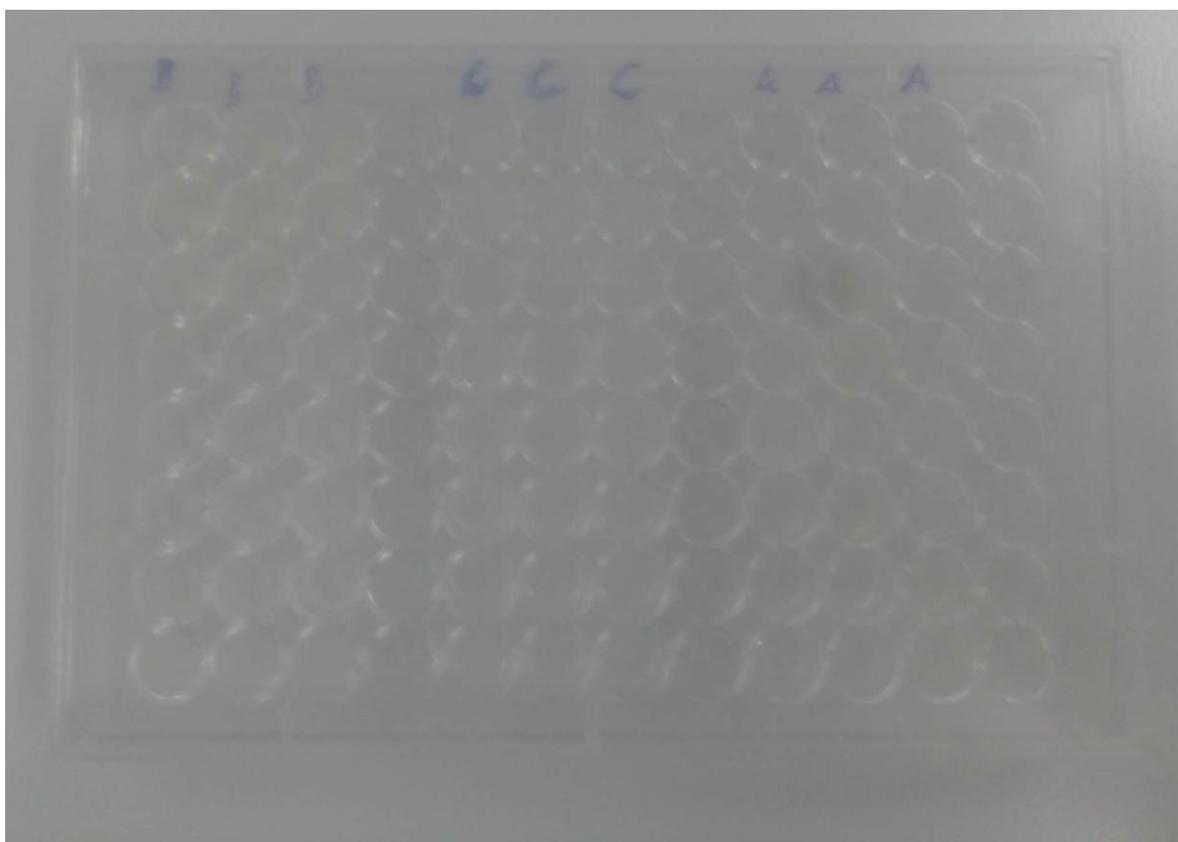
O possível impacto que apresenta essa pesquisa para oferta regional de condições de tratamento alternativo das doenças diarreicas constitui-se em importante ferramenta de fácil acesso e de formulação pela população, que já incorpora hábitos de uso de chás e outros extratos da vegetação da Caatinga, no tratamento de várias doenças. Contudo, a proposta dessa pesquisa vem contribuir com indicadores científicos que vão além dos costumes regionais, mas com base em respostas experimentais, inicialmente *in vitro*. Entretanto, abre-se uma janela de importante pesquisa promissora, quando em estudos mais aprofundados venha a ser testado em modelos animais, e finalmente, na população.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir serão apresentados os resultados inerentes a pesquisa experimental realizada com as linhagens padrões de Enterobactérias de linhagens diarreio gências. Para tal, foi observado a mudança de cor do meio de azul para vermelho indicando à presença de crescimento bacteriano e a permanência em azul, a ausência de crescimento.

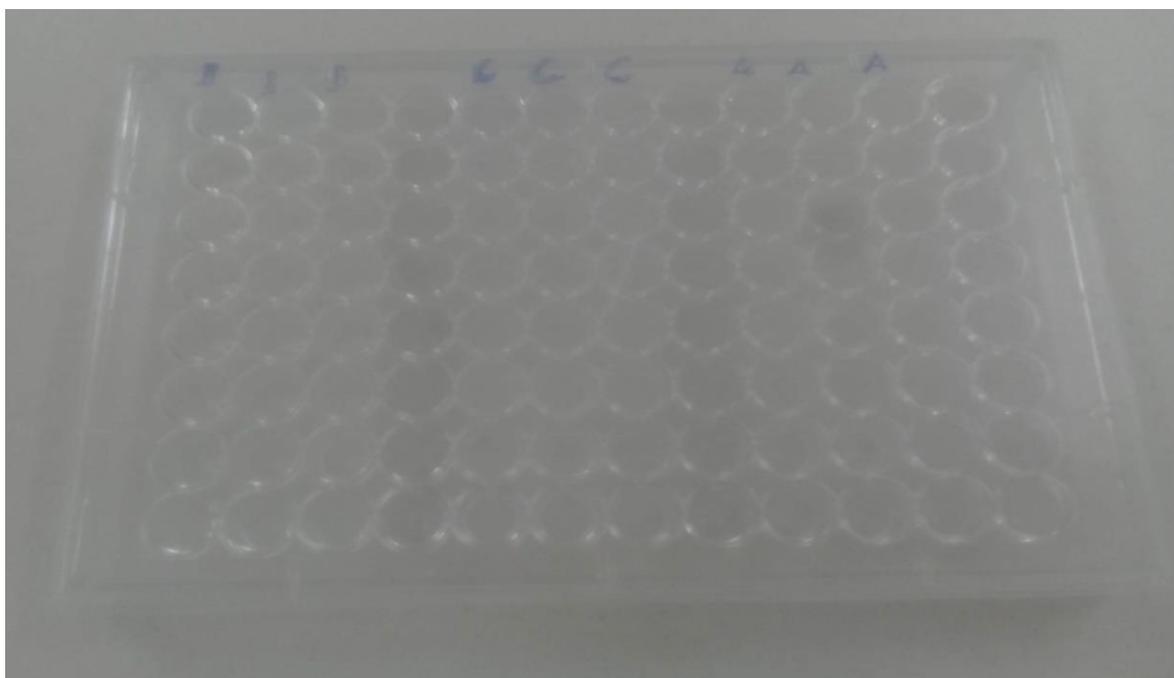
Ao se iniciar o teste (Figura 2) foi colocado o inóculo com os antibióticos (B - BENZETACIL e C - CIPROFLOXACINO) e inóculo com a amostra (A) como pode ser visto na placa.

Figura 2: Início do teste - Inóculo com os antibióticos (B - BENZETACIL e C - CIPROFLOXACINO) e Inóculo com a amostra (A)



Fonte: Dados da pesquisa (2021).

Figura 3: Início do teste - Inóculo com os antibióticos (B - BENZETACIL e C - CIPROFLOXACINO) e Inóculo com a amostra (A)



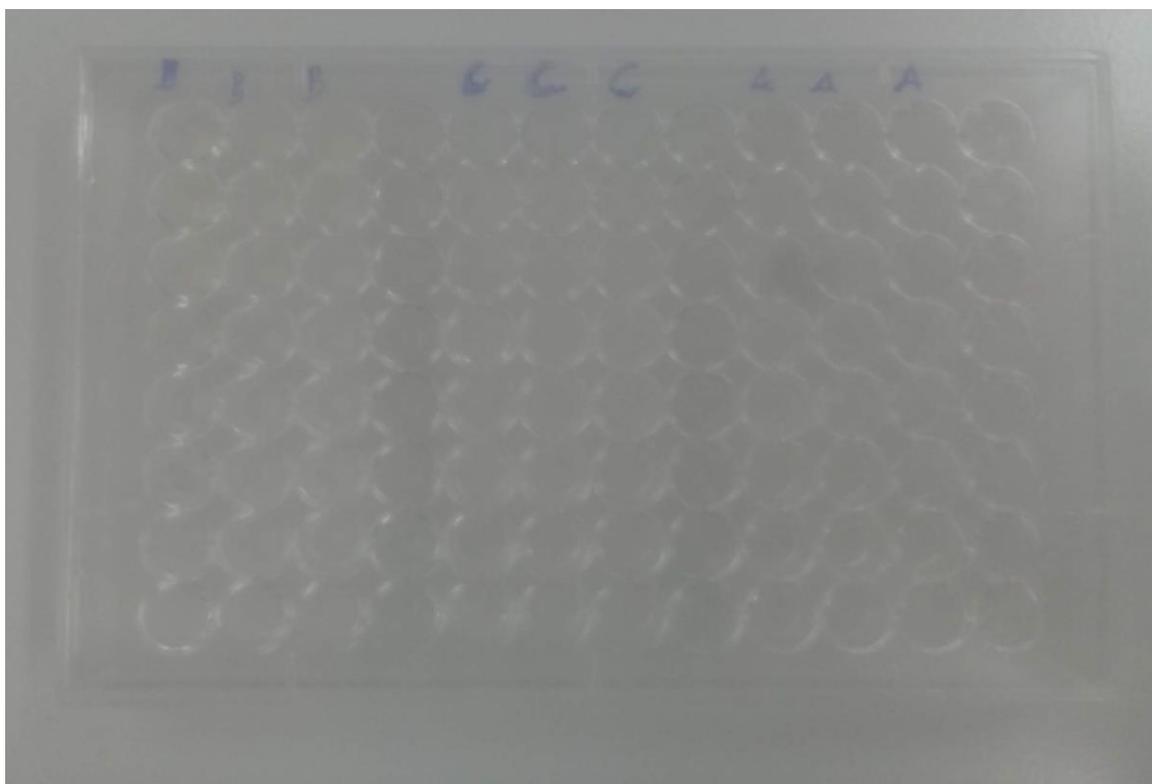
Fonte: Dados da pesquisa (2021).

Figura 4: Início do teste - Inóculo com os antibióticos (B - BENZETACIL e C - CIPROFLOXACINO) e Inóculo com a amostra (A)



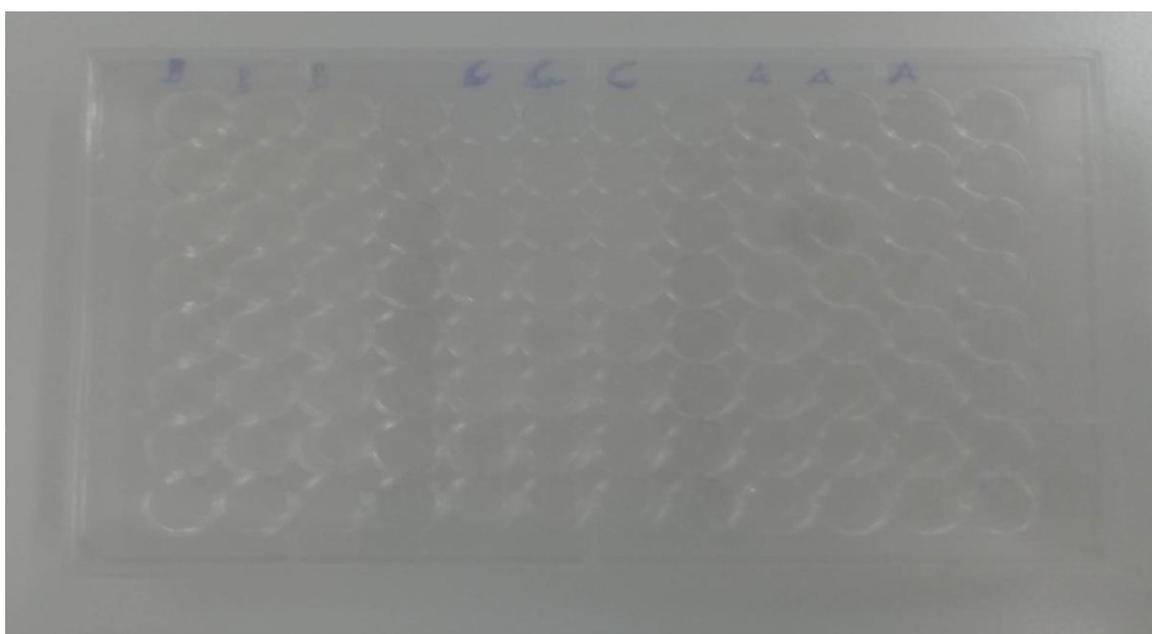
Fonte: Dados da pesquisa (2021).

Figura 5: Início do teste - Inóculo com os antibióticos (B - BENZETACIL e C - CIPROFLOXACINO) e Inóculo com a amostra (A)



Fonte: Dados da pesquisa (2021).

Figura 6: Início do teste - Inóculo com os antibióticos (B - BENZETACIL e C - CIPROFLOXACINO) e Inóculo com a amostra (A)

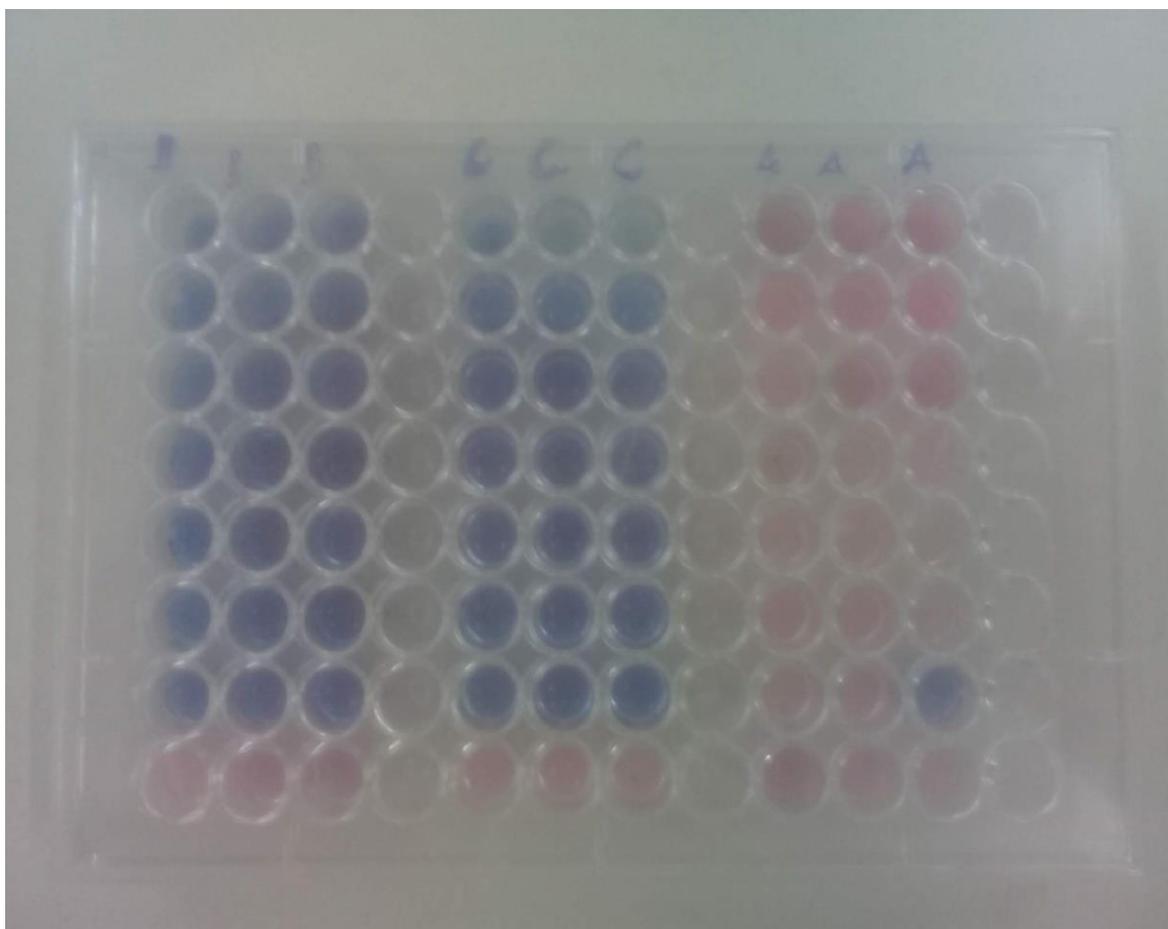


Fonte: Dados da pesquisa (2021).

Após o período de 24 horas em estufa BOD, observou-se por meio de coloração com nemesulida, que os antibióticos apresentaram eficácia diante da bactéria *E. coli*, entretanto a amostra analisada não apresentou potencial para o controle do microrganismo.

Ao ser inoculado a Benzetacil (B) e o Ciprofloxacino (C) na placa, notou-se que houve um crescimento bacteriano somente ao final do experimento, como pode ser observado na Figura 7, 8, 9 e 10.

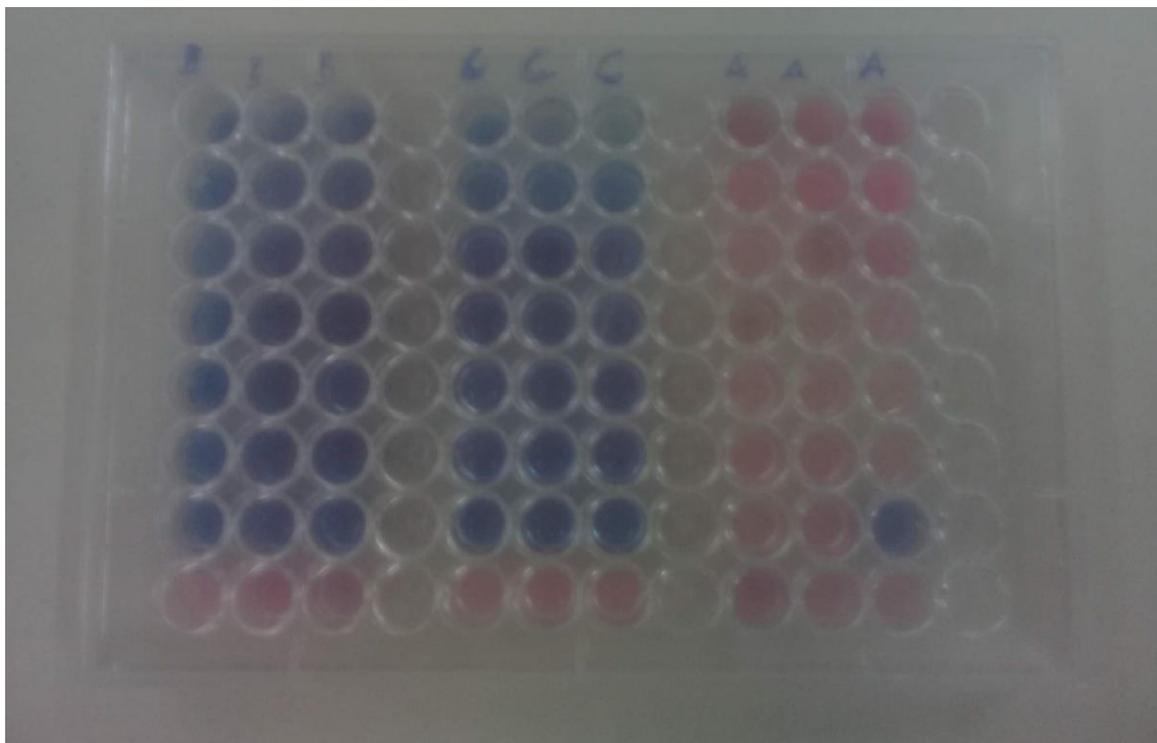
Figura 7: Crescimento bacteriano ao ser inoculado a Benzetacil (B) e o Ciprofloxacino (C) na placa



Fonte: Dados da pesquisa (2021).

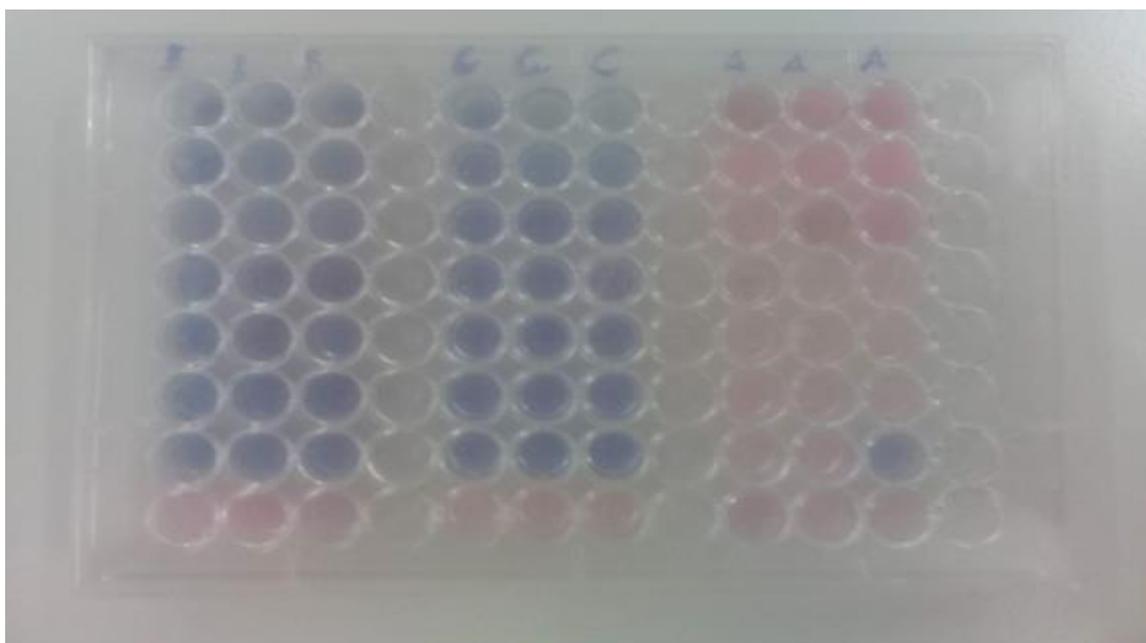
Tendo por base o estudo realizado por Mayer (2017), os experimentos envolvendo o extrato da folha de *S. mombin* L. confirma o seu potencial antimicrobiano, atribuindo-o à sua composição química, representada pela presença polifenóis, flavonoides, taninos e saponinas, visto que os compostos fenólicos, flavonoides e taninos são substâncias conhecidas por sua importante ação antimicrobiana.

Figura 8: Crescimento bacteriano ao ser inoculado a Benzetacil (B) e o Ciprofloxacino (C) na placa



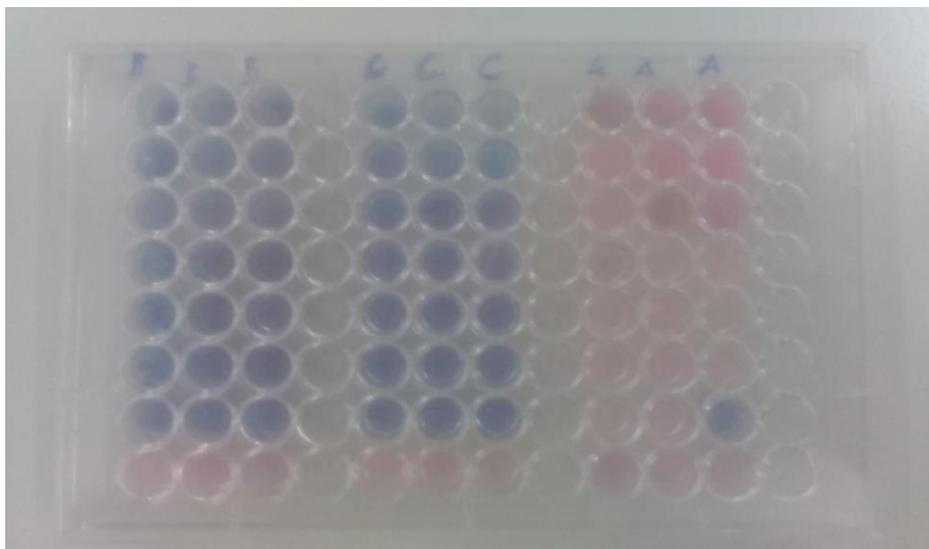
Fonte: Dados da pesquisa (2021).

Figura 9: Crescimento bacteriano ao ser inoculado a Benzetacil (B) e o Ciprofloxacino (C) na placa



Fonte: Dados da pesquisa (2021).

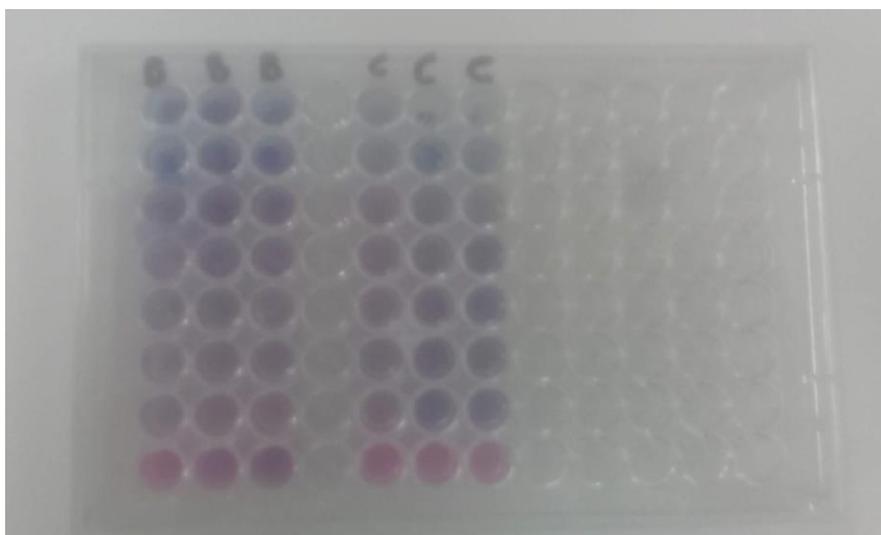
Figura 10: Crescimento bacteriano ao ser inoculado a Benzetacil (B) e o Ciprofloxacino (C) na placa



Fonte: Dados da pesquisa (2021).

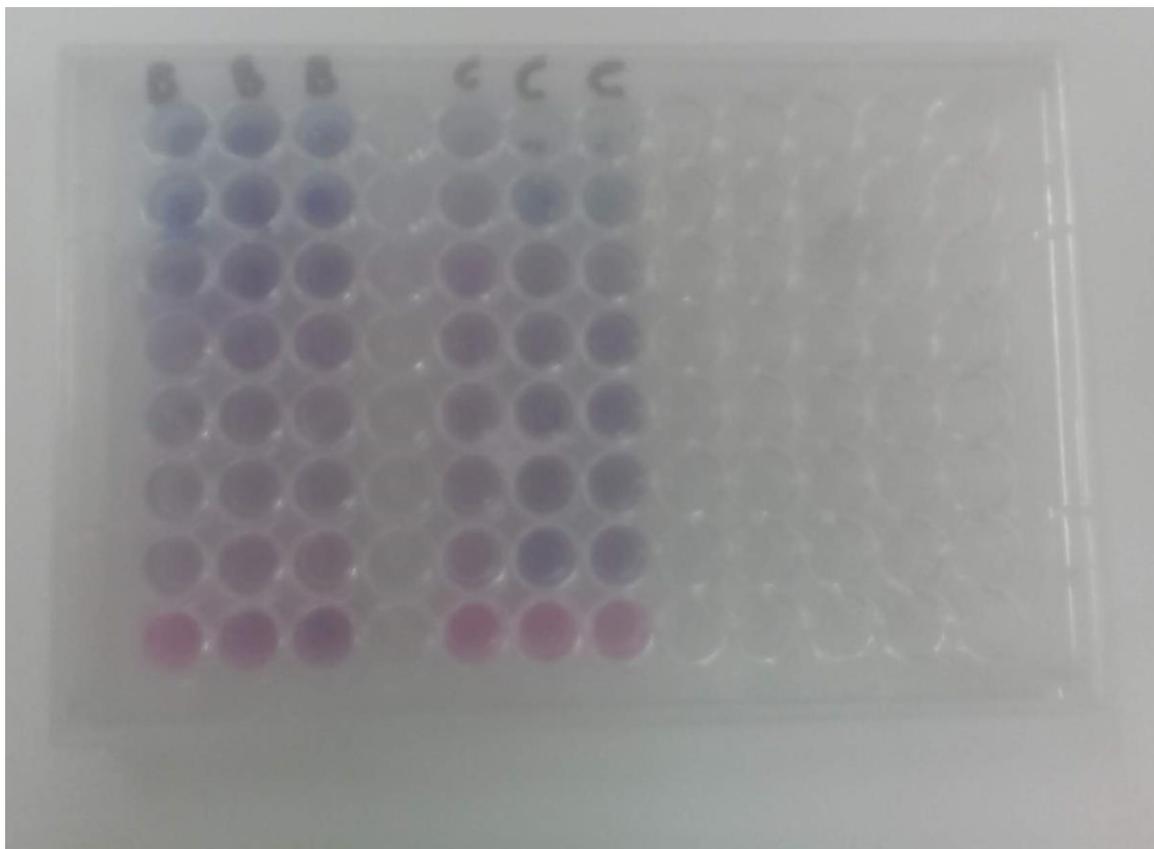
Na etapa seguinte foi-se utilizada o CIM/8, compondo inóculo, amostra e antibiótico (B - BENZETACIL e C - CIPROFLOXACINO), onde após 24 horas realizou-se a coloração com nimesulida, demonstrando que a amostra apresenta antagonista com a eficácia do antibiótico, permitindo a perda da eficácia do medicamento, como pode ser observado nas Figuras 11 e 12 a seguir:

Figura 11: Utilização do CIM/8 compondo inóculo, amostra e antibiótico (B - BENZETACIL e C - CIPROFLOXACINO)



Fonte: Dados da pesquisa (2021).

Figura 11: Utilização do CIM/8 composto inóculo, amostra e antibiótico (B - BENZETACIL e C - CIPROFLOXACINO)



Fonte: Dados da pesquisa (2021).

No estudo realizado com por Silva et al. (2014), percebeu-se que a atividade antibacteriana ocorre pela presença do derivado de ácido anarcádico, isolado das folhas da cajazeira (*S. mombin*), que possui a capacidade de inibir a β -lactamase, atividade atribuída também ao ácido clavulânico, antibacteriano comercialmente conhecido.

Silva et al. (2012) acrescentam a essa discussão que os compostos acima mencionados podem ser responsáveis total ou parcialmente pelas atividades biológicas dos extratos brutos e das frações obtidas do extrato metanólico. Resultados experimentais mostraram diferentes níveis de atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, assim como contra o fungo. O extrato metanólico de *Spondias* sp. demonstrou inibição no crescimento dos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *M. luteus* e *Candida albicans*. Estes dados indicam a presença de promissoras substâncias com atividades antifúngicas e antibacterianas, *in vitro*, assim como o presente estudo. Resultados estes comparados ao ciprofloxacino, penicilina e clorexidina, usados comumente como controles positivos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato hidroalcoólico da *Spondias mombin* L. (Cajá) sobre agentes enterobactérias eiarreioências da folha da cajazeira possui atividade antibacteriana sobre a *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

A concentração inibitória do extrato da *Spondias mombin* L. (Cajá) possui atividade clinicamente relevante para *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853), pois o valor do CIM \geq 1024 $\mu\text{g/mL}$.

O antibiótico Ciprofloxacino demonstrou atividade antibacteriana contra esta cepa mas, em associação com extrato hidroalcoólico da *Spondias mombin* L. (Cajá) obteve êxito. A Benzilpenicilina demonstraram não possuir este tipo de ação isoladamente.

Novas pesquisas devem ser realizadas posteriormente para maiores detalhes.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, N. C. et al.. Detecção de enteropatógenos e teste de susceptibilidade a agentes sanitizantes de cepas diarreio gênicas de *escherichia coli* isoladas das praias de São Luís – Maranhão. **Revista de Patologia Tropical**, v. 41, n 3, 2012.

CASTRO, ROSSANA SANTOS; CRUVINEL, VANESSA RESENDE NOGUEIRA; OLIVEIRA JAIME LOPES DA MOTA. Correlação entre qualidade da água e ocorrência de diarreia e hepatite A no Distrito Federal/Brasil. **Saúde debate**, v..43, n.3. p.8-19, 2019.

ARAÚJO, T. M. E. Surto de diarreia por rotavírus no município de Bom Jesus (PI). **Ciência Saúde Coletiva**, v. 1, supl. 1, p. 1039-1046, 2010. Disponível em: <<https://www.scielo.org/pdf/csc/2010.v15suppl1/1039-1046/pt>>. Acesso em 21 nov. 2018.

ÁVILA, H. P. **Atividade antibacteriana de chalconas**. 2008. 78p. Dissertação [Mestrado]. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2008.

BEKAI, L. H. **Atividade antibiótica do fungo *Antrodia albida* (Fr.) Donk. cultivado em laboratório**. 2010. 66. Dissertação [Mestrado]. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2010.

BORTOLOTI, K. C. S. **Qualidade microbiológica de fontes de águas naturais quanto ao perfil de resistência de bactérias heterotróficas a antimicrobianos, no município de Itajubá (MG)**. 2016. 103p. Dissertação [Mestrado]. Universidade Federal de Itajubá. Itajubá, 2016. Disponível em: <https://repositorio.unifei.edu.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/491/dissertacao_bortoloti_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em 25 nov. 2018.

BÜHLER, H. F et al. Análise espacial de indicadores integrados de saúde e ambiente para morbimortalidade por diarreia infantil no Brasil, 2010. **Cad. Saúde Pública**, v. 30, n. 9, set., 2014. Disponível em: <https://www.scielo.org/scielo.php?pid=S0102-311X2014001001921&script=sci_arttext&tlng=es>. Acesso em 20 nov. 2018.

_____. Análise espacial de indicadores integrados determinantes da mortalidade por diarreia aguda em crianças menores de 1 ano em regiões geográficas. **Ciênc. saúde coletiva**, v. 19, n. 10, out., 2014. Disponível em: <<https://www.scielo.org/article/csc/2014.v19n10/4131-4140/>>. Acesso em 20 nov. 2018.

CALIMAN, M. C. W. **Estudo de vigilância bacteriológica: isolamento, fatores de virulência e resistência antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli* isoladas de gatos domésticos na região de Ribeirão Preto**. 2010. 113p. Dissertação [Mestrado]. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Jaboticabal, 2010. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/94957/caliman_mcw_me_jabo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em 21 nov. 2018.

COSTA, A. R. F. et al.. Desenvolvimento de PCR multiplex para detecção e diferenciação de categorias de *Escherichia coli* diarreio gênicas. **Rev Pan-Amaz Saude**, Ananindeua, v.1, n. 2, jun., 2010. Disponível em: <http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?pid=S2176-62232010000200009&script=sci_arttext&tlng=pt>. Acesso em 24 nov. 2018.

COURA, F. M. ; LAGE, A. P.; Heinemann, M. B. Patotipos de *Escherichia coli* causadores de diarreia em bezerros: uma atualização. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 34, n. 9, p. 811-818, set., 2014.

FERREIRA, F. M. C.; LOURENÇO, F. J. C.; BALIZA, D. P. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais na comunidade quilombola Carreiros, Mercês – Minas Gerais. **Revista Verde**, Pombal, v 9, n. 3, p. 205- 212, jul-set, 2014. Disponível em: <<http://gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/2612/2436>>. Acesso em 22 nov. 2018.

FONSECA, Cristiane Alves da; PEREIRA, Denise Gonçalves. Aplicação da genética toxicológica em planta com atividade medicinal. **Infarma**, v.16, n. 7-8, 2004. Disponível em: <<http://www.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/79/16-aplicacao.pdf>>. Acesso em 24 nov. 2018.

LIMA, E. L. F. **Triagem fitoquímica e ação antibacteriana de *Spondias mombin* L. sobre bactérias bucais planctônicas**. 2016. 49p. Dissertação [Mestrado]. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2016. Disponível em: <http://www.repositorio.ufrn.br:8080/jspui/bitstream/123456789/22022/1/EmanuelleLouydeFerreiraDeLima_DISSERT.pdf>. Acesso em 19 nov. 2018.

LOUREIRO, E. C. B. et al.. Detecção de bactérias enteropatogênicas e enteroparasitas em pacientes com diarreia aguda em Juruti, Pará, Brasil. **Rev Pan-Amaz Saude**, v. 1, p. 143-148, 2010. Disponível em: <<http://scielo.iec.gov.br/pdf/rpas/v1n1/v1n1a20.pdf>>. Acesso em 20 nov. 2018.

LUCENA, E. F. L. **Análise do grau de conversão de uma resina ortodôntica incorporada com extrato de folhas de cajá (*Spondias mombin*): um estudo piloto**. 2017. 23p. Monografia [Graduação]. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2017. Disponível em: <<https://monografias.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/7081/1/%5b2017.2%5d%20An%C3%A1lise%20do%20grau%20de%20convers%C3%A3o%20de%20uma%20resina%20ortod%C3%B4ntica%20incorporada%20com%20extrato%20de%20folhas%20de%20caj%C3%A1%20%28spondias%20mombin%29%20um%20estudo%20piloto..pdf>>. Acesso em 19 nov. 2018.

MAGALHÃES, THALITA SÉVIA SOARES DE ALMEIDA et al.. International Journal of Molecular Sciences. Development and Evaluation of Antimicrobial and Modulatory Activity of Inclusion Complex of Euterpe oleracea Mart Oil and β -Cyclodextrin or HP- β -Cyclodextrin. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 21, n. 942, p. 1-18, 2020.

MAIA-ARAÚJO, Y. L. F. et al. Comparação entre duas técnicas utilizadas no teste de sensibilidade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha. **Scientia Plena**, Sergipe, v 7, n 4, 2011.

MARTINS, A. G. L. A. **Atividade antibacteriana dos óleos essenciais do manjeriço (*Ocimum basilicum* Lannaeus) e do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) frente a linhagens de *Escherichia coli* enteropatogênicas isoladas de hortaliças**. 2010. 110p. Tese [Doutorado]. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2010. Disponível em: <<https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/tede/4091/1/parte1.pdf>>. Acesso em 19 nov. 2018.

MATTIETTO, R. A.; LOPES, A. S.; MENEZES, H. C. Caracterização física e físico-química dos frutos da cajazeira (*Spondias mombin* L.) e de suas polpas obtidas por dois tipos de extrator. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 13, n. 3, p. 156-164, jul./set., 2010.

Disponível em:

<<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/880929/1/CaracterizacaoCajazeira.pdf>>. Acesso em 20 nov. 2018.

MAYER, J. S. L. **Ação antimicrobiana do extrato de *Spondias mombin* L. frente a *Enterococcus faecalis***. 2017. 40p. Dissertação [Mestrado]. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2016. Disponível em:

<<https://monografias.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/4803/1/%5B2017.1%5D%20A%C3%A7%C3%A3o%20antibacteriana%20do%20extrato%20de%20Spondias%20mombin%20L.%20frente%20ao%20Enterococcus%20faecalis.pdf>>. Acesso em 19 nov. 2018.

MEDEIROS, A. J. D. et al.. **Avaliação da atividade antimicrobiana das plantas *Spondias purpurea* L., *Spondias mombin* L., e *Azadirachta indica* A. sobre cepas isoladas de caprinos com aptidão leiteira**. VII CONNEPI – Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação. 2012. Disponível em: <<http://prop.ipto.edu.br/ocs/index.php/connepi/vii/paper/viewFile/3233/1947>>.

Acesso em 19 nov. 2018.

MENEGUESSI, G. M. et al.. Morbimortalidade por doenças diarreicas agudas em crianças menores de 10 anos no Distrito Federal, Brasil, 2003 a 2012. **Epidemiologia serviço de saúde**, Brasília, v. 24, n. 3, 2015.

MENEZES, A. C. S. **Desenvolvimento de bebida láctea fermentada à base de soro de leite e polpa de cajá (*Spondias mombin* L.) com potencial atividade probiótica**. 2011. 106p.

Dissertação [Mestrado]. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2011.

Disponível em:

<<http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede/bitstream/tede2/5067/2/Adriana%20Carla%20Santos%20de%20Menezes.pdf>>. Acesso em 21 nov. 2018.

MORAIS, M. B.; TAHAN, S.; MELLO, C. S. **Diarreia aguda: Probióticos e outros coadjuvantes na terapêutica**. Atualidades em clínica cirúrgica intergastro e trauma 2012. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2013.

MORAIS, MAURO BATISTA (Org.) et al. Diarreia aguda: diagnóstico e tratamento. **Guia Prático de Atualização**. Sociedade Brasileira de Pediatria, p.1-15, 2017.

PORTELA, R. A. et al. A incidência das doenças diarreicas e a sua relação com a ausência de saneamento: uma revisão bibliográfica. **Hygeia**, v. 7, n. 13, p. 150 - 156, dez., 2011. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/hygeia/article/view/17056/9404>>. Acesso em 24 nov. 2018.

SANTOS, E. F. et al. Quantificação de compostos bioativos em frutos de Umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Câm.) e Cajá (*Spondias mombin* L.) nativos de Alagoas. **Ciência Agrícola**, Rio Largo, v. 16, n. 1, p. 21-29, 2018. Disponível em:

<<http://www.seer.ufal.br/index.php/revistacienciaagricola/article/view/3484/3599>>. Acesso em 19 nov. 2018.

SANTOS, F. S. et al. Aleitamento materno e proteção contra diarreia: revisão integrativa da literatura. **Einstein**, São Paulo, v. 13, n. 3, jul.-sep., 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1679-45082015000300435&script=sci_arttext&tlng=pt>. Acesso em 19 nov 2018.

SANTOS, K. F. F. et al.. Fármacos que podem provocar a doença diarreica. **Rev Bras Nutr Clin.**, v. 29, n. 4, p. 352-9, 2014. Disponível em: <<http://www.braspen.com.br/home/wp-content/uploads/2016/11/14-F%C3%A1rmacos-que-podem.pdf>>. Acesso em 24 nov. 2018.

SANTOS, S. L. F. et al. O papel do farmacêutico enquanto promotor da saúde no uso racional de antibióticos. **RSC online**, v. 6, n. 1, p. 79 –88, 2017. Disponível em: <<http://150.165.111.246/revistasaudeciencia/index.php/RSC-UFCG/article/view/393/274>>. Acesso em: 24 nov. 2018.

SBP, Sociedade Brasileira de Pediatria. **Diarreia aguda: diagnóstico e tratamento**. 2017. Disponível em: <http://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/2017/03/Guia-Pratico-Diarreia-Aguda.pdf>. Acesso em 19 nov. 2018.

SILVA, D. L. **Investigação de atividade antimicrobiana de extratos de plantas utilizadas na medicina popular por moradores de comunidades rurais de Manacapuru, AM**. 2012. 68p. Dissertação [Mestrado]. Universidade do Estado do Amazonas. Manaus, 2012.

SILVA, G. A. et al. Avaliação da letalidade e atividade antimicrobiana de extratos de folhas de *Spondias mombin* aff. *Tuberosa*. **FACIDER – Revista Científica**, v. 1, n. 1, 2012. Disponível em: <<http://revista.sei-cesucol.edu.br/index.php/facider/article/view/16>>. Acesso em 03 mai. 2021.

SILVA, G. A. Gênero *Spondias*: aspectos botânicos, composição química e potencial farmacológico. **Biofarm**, v. 10, n. 01, 2014. Disponível em: <<https://core.ac.uk/download/pdf/230857454.pdf>>. Acesso em 04 mai. 2021.

SILVA, R. A. et al.. Características físico-químicas e atividade antimicrobiana de extratos de própolis da Paraíba, Brasil. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 6, p. 1842-1848, 2006.

SILVINO, R. C. A S. et al. Qualidade nutricional e parâmetros morfológicos do fruto Cajá (*Spondias mombin* L.). **Revista Desafios**, v. 04, n. 02, 2017. Disponível em: <<https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/desafios/article/view/3131/9648>>. Acesso em 20 nov. 2018.

SOARES, E. B. et al.. Caracterização física e química de frutos de cajazeira. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 28, n. 3, p. 518-519, dez., 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbf/v28n3/39.pdf>>. Acesso em 21 nov. 2018.

SPG, Sociedade Portuguesa de Gastrenterologia. **Diarreia: avaliação e tratamento normas de orientação clínica**. 2015. Disponível em: <http://www.spg.pt/wp-content/uploads/2015/11/NOC_diarreia.pdf>. Acesso em 24 nov. 2018.

SOUSA, E. A. **Segurança do paciente: avaliação do programa de controle do uso de antimicrobianos na uti do hospital geral público de Palmas-TO**. 2014. 52p. Monografia [Graduação]. Centro Universitário Luterano de Palmas. Palmas, 2014.

TORRES, A. G. Imunidade materna, uma forma de conferir proteção contra *Escherichia coli* enteropatogênica. **J. Pediatr. (Rio J)**, Porto Alegre, v. 93, n. 6, nov./dec., 2017. Disponível: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0021-75572017000600548&script=sci_arttext&tlng=pt>. Acesso em 19 nov. 2018.

VAZ, F. P. C.; NASCIMENTO, L. F. C. Distribuição espacial das internações por diarreia no Estado de São Paulo. **Rev. Bras. Saude Mater. Infant.**, Recife, v. 17, n. 3, jul/sept., 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1519-38292017000300475&script=sci_arttext&tlng=pt>. Acesso em 22 nov. 2018.

WOLLHEIM, C. **Epidemiologia molecular de *Escherichia coli* e *Klebsiella spp* produtoras de beta-lactamase de espectro ampliado**. 2009. 170p. Tese [Doutorado]. Universidade de Caxias do Sul. Caxias do Sul, 2009. Disponível em: <<https://repositorio.uces.br/xmlui/bitstream/handle/11338/400/Tese%20Claudia%20Wollheim.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 22 nov. 2018.

WGO, WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION. **Diarreia aguda em adultos e crianças: uma perspectiva mundial**. 2012. Disponível em: <<http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/acute-diarrhea-portuguese-2012.pdf>>. Acesso em: 19 nov. 2018.

WHO, World Health Organization. **The Treatment of Diarrhoea**. A Manual for Physicians and Other Senior Health Workers (WHO/CAH/03.7). Geneva: World Health Organization, 2005.