

---

## Investigação do potencial antibiofilme do extrato das folhas de *Varronia globosa* Jacq. sobre bactérias isoladas de cavidade oral canina

### Investigation of the antibiofilm potential of leaf extract of *Varronia globosa* Jacq. about bacteria isolated from canine oral cavity

---

#### **Alexsandro Melquiades de Góis**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1009-400X>

Universidade de Pernambuco, Brasil

E-mail: alexsandro.gois@upe.br

#### **Hiram Marinho Falcão**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3198-1801>

Universidade de Pernambuco, Brasil

E-mail: hiram.falcao@upe.br

#### **Nabuêr Francieli da Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9248-465X>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: nabuer.silva@ufpe.br

#### **Rosângela Estevão Alves Falcão**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7693-4630>

Universidade de Pernambuco, Brasil

E-mail: rosangela.falcao@upe.br

---

### RESUMO

As altas taxas de resistência bacteriana aos antibióticos estão impactando o modo de vida da população humana e animal no mundo. Paralelamente, algumas plantas medicinais do Agreste e Sertão pernambucano têm revelado um potencial antimicrobiano promissor. Entre elas, a maria-preta (*Varronia globosa* Jacq.) têm apresentado propriedades terapêuticas contra diversas infecções. Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade antimicrobiana e antibiofilme do extrato de *V. globosa* frente a isolados bacterianos oriundos de cavidade oral canina. Para isso, foram testadas diferentes concentrações do extrato etanólico da planta utilizando metodologias de *anti-quorum sensing* do extrato vegetal e sua concentração inibitória mínima (CIM). O extrato etanólico de *V. globosa* apresentou elevado potencial antimicrobiano e antibiofilme frente a cepa de *E. faecium*. Contudo, sua atividade antimicrobiana e antibiofilme mostrou-se limitada para cepas de *E. coli*, necessitando de novos estudos acerca desses compostos inibidores para serem utilizados com maior eficiência.

**Palavras-chave:** Extrato vegetal; Antibacteriano; Anti-*quorum sensing*; Cão.

---

## ABSTRACT

High rates of antibiotic resistance in bacteria are affecting the way of life of human and animal population around the world. At the same time, some medicinal plants from the Agreste and Sertão of Pernambuco have revealed promising antimicrobial activity. Among them, the “black mary” (*Varronia globosa* Jacq.) has shown therapeutic properties against various infections. In this context, this work aimed to evaluate the antimicrobial and antibiofilm activity of *V. globosa* extract against bacterial isolates from canine oral cavities. For this, different concentrations of the plant's ethanolic extract were tested using anti-quorum sensing and the minimum inhibitory concentration (MIC) methodologies. The ethanolic extract of *V. globosa* showed high antimicrobial and antibiofilm potential against the *E. faecium* strain. However, its antimicrobial and antibiofilm activity proved to be limited for strains of *E. coli*, requiring further studies on these inhibitory compounds in order to be used more efficiently.

**Keywords:** Plant extract; Anti-bacterial; Anti-quorum sensing; Dog.

---

## INTRODUÇÃO

A crescente evolução da resistência bacteriana tem impactado o modo de vida dos seres vivos em todo o mundo. Esse fator tem sido determinante para uma obstinada busca por antimicrobianos extraídos e isolados de produtos vegetais, uma vez que no meio ambiente são vigorosamente encontradas diversas moléculas bioativas de interesse farmacológico (MELISSA *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2018). Em cães, o tratamento a infecções tem sido dificultado pelo aumento de resistência microbiana aos fármacos, especialmente os microrganismos formadores de biofilme, por esse componente reduzir a ação de drogas antimicrobianas (LOPES, 2017). O tártaro presente nos caninos apresenta sérios riscos ao animal, principalmente devido ao surgimento de doenças periodontais, dificultando sua alimentação e provocando problemas mais agravantes de saúde (SILVEIRA; LIMA, 2021).

Infecções por *Escherichia coli* tem se apresentado como um grave problema de saúde pública. Essa espécie microbiana possui uma alta taxa de adaptabilidade para vários antibióticos, levando a óbito um grande número de pessoas, sendo excelente formadora de biofilme *in vitro* (FERNANDES *et al.*, 2011; LOPES, 2017). Outra espécie preocupante é *Enterococcus faecium*, com resistência aos beta-lactâmicos penicilina e ampicilina, aminoglicosídeos estreptomicina e gentamicina, ciprofloxacina e rifampicina trimetoprima com sulfametoxazol, além de algumas cepas apresentarem perfil de resistência à vancomicina. Quando em estágio de infecção, *E. faecium* pode causar problemas de mucosite, incontinência fecal e urinária, variando os sintomas entre diferentes mamíferos (BUSANI *et al.*, 2004; BOCANEGRA-IBARIAS *et al.*, 2016; GAGETTI *et al.*, 2019).

Com isso, plantas medicinais têm demonstrado um alto grau de atividade antimicrobiana, se apresentando como métodos alternativos de baixo custo de produção, tendo manifestado grande sucesso na inibição de formação de biofilme *in vitro* (PEREIRA *et al.*, 2006; ALVES *et al.*, 2009).

A região do Agreste Meridional nordestino apresenta abundância de espécies com propriedades terapêuticas (CARVALHO *et al.*, 2013). Culturalmente, a população sertaneja se utiliza das espécies vegetais com intuito de curar doenças dos mais variados tipos (SANTOS, 2017).

Popularmente conhecida como maria-preta, a planta da espécie *Varronia globosa* é encontrada nas regiões Sudeste e Nordeste no Brasil. Sendo uma planta sinonímia, é conhecida na literatura por *Varronia globosa* Jacq., *Cordia globosa* (Jacq.) Kunth e *Cordia serratifolia* Kunth. Possui como basônimo *Cordia globosa* (Jacq.) Kunth, que, devido a mudanças na sua filogenia, passou a integrar um novo grupo monofilético distinto, o das *Varronias* (STAPF, 2015; GBIF, 2019). Silva *et al.* (2018) afirmam que algumas substâncias presentes em *V. globosa* se mostraram capazes de inibir a proliferação bacteriana, apesar de poucos estudos focarem na ação dos diferentes compostos voláteis proveniente de plantas do gênero *Varronia*. Ainda, *V. globosa* é indicada pelo uso social para tratar fungos causadores de problemas dermatológicos, infecções diarreicas e do trato respiratório (MELISSA *et al.*, 2016).

Assim, diante da busca por novos fármacos utilizando produtos naturais, onde o Agreste e Sertão Nordestino possuem plantas ricas em princípios ativos com grande variedade de metabólitos secundários e diante da problemática da resistência bacteriana que vem ocorrendo nos últimos tempos a nível global, o presente estudo tem por objetivo avaliar a capacidade antimicrobiana e antibiofilme do extrato de *V. globosa* frente a isolados bacterianos oriundos de cavidade oral canina *E. coli* e *E. faecium*. Esse estudo possui grande importância para a ciência e saúde dos caninos. Os resultados poderão ser utilizados para pesquisas futuras sobre o tema abordado.

## METODOLOGIA

### Coleta, identificação botânica, confecção de extratos e cepas utilizadas

As folhas de *Varronia globosa* Jacq., popularmente conhecida por “maria-preta”, foram coletadas no sítio Piabas com coordenada geográfica 9°04'01"S 36°40'32"W a 655 metros de altitude zona rural do município de Terezinha, Pernambuco, Brasil, em julho de 2019, período de clima chuvoso na área pesquisada. Durante a coleta foram separadas três amostras da planta para confeccionar exsiccatas, as quais foram posteriormente enviadas para o IPA (Instituto agrônomo de Pernambuco), tendo sido realizado o depósito e tombamento com número 93792.

Após a coleta, a parte da planta utilizada (folhas) foi limpa com papel toalha umedecido e colocada em um becker junto com álcool etílico P.A na proporção 1:10 (Amostra/Álcool/ g/ml). Após uma semana protegida da luz e em temperatura ambiente,

a solução resultante foi coada em papel filtro e levada para rotaevaporação sob pressão reduzida a 50°C para eliminação do solvente. O extrato bruto resultante dessa separação foi armazenado em frasco e posto na cabine de exaustão para completa evaporação do álcool.

As cepas utilizadas foram cedidas pelo Laboratório de Bioprospecção e etnofarmacotoxicologia aplicada (LABEA) da Universidade de Pernambuco, Campus Garanhuns, coletadas da cavidade oral de uma cadela sem raça definida apresentando porte médio.

### Determinação da concentração inibitória mínima (cim) do extrato etanólico de *varronia globosa* jacq. frente *enterococcus faecium* e *escherichia coli*

Foi utilizado o teste de microdiluição em caldo adaptado do NCCLS (2003) para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) do extrato. Para tanto foi avaliada a eficiência do extrato etanólico de *V. globosa* nas concentrações de 25 mg/ml, fazendo diluição seriada até chegar à concentração de 0,09 mg/ml, comparando-se a sua eficácia antimicrobiana ao antibiótico (amoxicilina + clavulanato de potássio). Ainda, foi avaliada a capacidade modulatória (sinergismo) do extrato associado ao antibiótico nas mesmas concentrações anteriormente citadas. Foram utilizados dois controles negativos, o primeiro formado apenas pelo caldo Mueller-Hinton (MH) e o segundo constituído pelo caldo mais o tween (1%), emulsificante utilizado para auxiliar na completa solubilização do extrato. O controle positivo foi composto pelo caldo MH e o inóculo, o qual foi padronizado na leitora de microplaca (Thermo Multiskan GO) entre 0,08 e 0,1 nm, num comprimento de onda de 600 nm. O valor do CIM foi determinado através da subtração dos valores da densidade ótica (DO) das leituras do teste nos tempos de 0 e 24 horas, depois comparando com o controle negativo do meio de cultura.

### Avaliação da formação de biofilme

A capacidade de formação de biofilme das espécies bacterianas estudadas foi avaliada seguindo o método de fixação em placas descrito por Guimarães *et. al.* (2012) que se utiliza de bases espectrofotométricas, visando obter a densidade óptica das cepas que ficam fixadas nas placas. Anterior ao início do teste todo o material a ser utilizado foi

esterilizado e as cepas bacterianas foram reativadas em caldo triptona de soja (TSB). Após ajuste o inóculo foi adicionado aos seguintes meios de cultura: caldo Triptona soja (TSB), caldo Triptona soja glicado (1% glicose), Caldo *Brain Heart Infusion* (BHI), caldo *Brain Heart Infusion* glicado (1% glicose), Caldo Mueller-Hinton (MH) e caldo Mueller-Hinton glicado (1% glicose) para analisar em que meio a produção de biofilme seria mais eficiente. No controle de esterilidade foi usado o meio de cultura que estava sendo testado e caldo TSB (utilizado para crescimento dos inóculos). Todo o experimento foi realizado em quadruplicata. A análise dos dados foi obtida a partir das leituras nos tempos 0h e 24h, que foi feita comparando-se a média dos poços testes e a média dos poços dos controles de esterilidade. O protocolo apresentou adaptações nas concentrações e materiais utilizados.

### Revelação do biofilme

Para o processo de revelação do biofilme microbiano foi utilizado cristal violeta (0,4%), seguindo método descrito por Xu *et al.* (2016). Inicialmente, a bancada foi coberta com papel laminado e o meio de cultura com inóculo da placa vertido em um béquer com hipoclorito. Posteriormente, a placa foi lavada três vezes em solução salina e levada a estufa de secagem a 55°C durante 1 hora para fixação do biofilme. Decorrido o tempo protocolado, as bactérias fixadas em placa foram coradas com o cristal violeta 0,4%, sendo descartado após 15 minutos e adicionado o etanol. A leitura dos dados foi realizada na leitora de microplaca (Thermo Multiskan GO) num comprimento de onda de 570 nm.

A análise dos dados foi realizada comparando os valores das absorbâncias do inóculo em relação ao controle de esterilidade. A classificação como não produtor ocorre quando a densidade ótica do isolado for menor ou igual que a densidade ótica do controle de esterilidade, fraco produtor, quando a densidade ótica do controle de esterilidade for menor que a densidade ótica do isolado e o isolado seja menor ou igual que duas vezes o controle de esterilidade, moderado produtor quando duas vezes o controle de esterilidade for menor que a densidade ótica do isolado e esse isolado seja menor ou igual quatro vezes o controle de esterilidade ou forte produtor de biofilme quando quatro vezes a densidade ótica do controle de esterilidade for menor que a densidade ótica do isolado (LIMA *et. al.*, 2017).

## Avaliação da atividade *anti-quorum sensing*

O método de aderência das cepas em placa desenvolvido por Guimarães *et al.* (2012) foi seguido com adaptações, para analisar a eficiência do extrato frente à inibição da formação de biofilme. Para a realização do ensaio foram utilizados quatro controles: o de esterilidade, que se colocou apenas meio de cultura; o de crescimento, que se adicionou meio de cultura e inóculo; o de esterilidade do extrato, em que foi adicionado meio de cultura juntamente com o extrato sem o inóculo e o de interferência do solubilizante, utilizando tween 80. Para o teste, utilizou-se meio de cultura BHI glicado (160µg), extrato (20µg) e inóculo (20µg), sendo realizado em quadruplicata. Os dados foram obtidos através de leitura em espectrofotômetro a 570 nm, nos tempos de 0h e 24h e a média dos poços foi comparada à média dos controles de esterilidade para posterior revelação dos biofilmes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Determinação da concentração inibitória mínima (cim)

Através da técnica de microdiluição em caldo, foi verificado que a quantidade mínima que o extrato etanólico das folhas de *Varronia globosa* Jacq. utilizada para inibir a cepa *E. faecium* foi de 0,19 mg/ml. Não foi observada inibição de *E. coli* em nenhuma concentração testada pelo extrato como podemos ver na tabela 1.

**TABELA 1.** Resultado do CIM (concentração inibitória mínima), onde se observa os valores do extrato, antibiótico e a atividade modulatória frente às cepas de *Enterococcus faecium* e *Escherichia coli*.

Cepa	Amostra CIM (mg/mL)		
	Extrato	Antibiótico	Atividade modulatória
<i>Enterococcus faecium</i>	0,19	0,09	0,09
<i>Escherichia coli</i>	-	0,09	0,09

Fonte: Própria (2020)

Analisando a tabela também se observou que o antibiótico inibiu tanto *E. faecium* quanto *E. coli* na menor concentração testada que foi de 0,09 mg/ml, apresentando melhores resultados que o extrato nas duas cepas trabalhadas. Não foi observado efeito sinérgico através da atividade modulatória nos dois microrganismos testados.

Apesar desse resultado, Silva *et al.* (2018) constataram através do CIM que a fração clorofórmica do extrato etanólico das folhas de *V. globosa* foi capaz de inibir *E. coli* na menor concentração de 0,5 mg/mL. Esse dado não corrobora com os dados obtidos neste trabalho, pois o extrato etanólico não conseguiu inibir a cepa de *E. coli*. O que pode ter acontecido é a possibilidade de outros metabólitos secundários terem atrapalhado na ação inibitante do metabólito desejado. Devido a polaridade do solvente clorofórmico ele consegue extrair alguns grupos de metabólitos secundários específicos do extrato etanólico bruto (SANTOS; DAVID; DAVID, 2017).

### Avaliação da formação de biofilme

Através do método de fixação em placas e leitura de dados na leitora de microplaca, foi analisado que quatro meios de cultura obtiveram forte produção de biofilme nas cepas selecionadas (tab.2). De acordo com o ensaio da avaliação da formação de biofilme, selecionou-se o caldo *Brain Heart Infusion* glicado (1% glicose) para avaliação da atividade anti-*quorum sensing* do extrato frente as cepas bacterianas *E. faecium* e *E. coli*. Essa escolha se deu no valor em nanômetros da formação de biofilme nesse meio, que foi o maior entre todos os outros testados.

**TABELA 2.** Resultado da formação de biofilme das cepas *Enterococcus faecium* e *Escherichia coli* em diferentes meios de cultura.

Cepa	Meio de cultura					
	TSB	TSB 1% glicose	MH	MH 1% glicose	BHI	BHI 1% glicose
<i>E. faecium</i>	MP	MP	FP	FP	FP	FP
<i>E. coli</i>	FP	FP	FP	FP	FP	FP

“MP”: Moderados produtores de biofilme, “FP”: Fortes produtores de biofilme.

### Atividade anti-*quorum sensing*

Pelo método de aderência das bactérias na placa e leitura em espectrofotômetro, foi avaliado a capacidade do extrato inibir a formação de biofilme das cepas através da interrupção do *quorum sensing*.

*E. faecium* (tab.3) obteve fraca produção de biofilme nas concentrações de 25 mg/ml à 1,56 mg/ml de extrato e moderada produção de biofilme nas concentrações de 0,78 mg/ml à 0,09 mg/ml. No antibiótico foi observada fraca produção de biofilme. Não foi observado efeito sinérgico através da atividade modulatória.

*E. coli* (tab.4) apresentou fraca produção de biofilme na concentração de 25 mg/ml, moderada produção de biofilme nas concentrações de 12,5 mg/ml à 3,12 mg/ml e forte produção de biofilme nas concentrações de 1,56 mg/ml à 0,09 mg/ml de extrato. No antibiótico foi demonstrado fraca produção de biofilme nas concentrações de 25 mg/ml à 0,78 mg/ml e moderada produção de biofilme nas concentrações de 0,39 mg/ml à 0,09 mg/ml.

**TABELA 3.** Avaliação da atividade anti-*quorum sensing*, onde mostra a capacidade de formação de biofilme quando entra em contato com os agentes inibidores extrato, antibiótico e a atividade modulatória frente a cepa de *Enterococcus faecium*.

Cepa	Amostra	25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39	0,19	0,09
		mg/ ml								
<i>E. faecium</i>	Ext	FRP	FRP	FRP	FRP	FRP	MP	MP	MP	MP
<i>E. faecium</i>	Ant	FRP								
<i>E. faecium</i>	Amo	FRP								

“Ext”: Extrato “Ant”: Antibiótico; “Amo”: Atividade modulatória; “FRP”: Fracos produtores de biofilme; “MP”: Moderados produtores de biofilme.

Fonte: Própria (2020)

Houve sinergismo do antibiótico e do extrato na cepa de *E. coli*, nas concentrações de 0,39 e 0,19 mg/ml, pois no efeito sinérgico apenas houve moderada produção de biofilme na última concentração testada de 0,09 mg/ml. Esses dados corroboram com a pesquisa feita por Abdulhasan (2017) que através de combinação de antibiótico e extrato vegetal conseguiu desenvolver sinergismo frente a cepa de *E. coli*.

**TABELA 4.** Avaliação da atividade anti-*quorum sensing*, onde mostra a capacidade de formação de biofilme quando entra em contato com os agentes inibidores extrato, antibiótico e atividade modulatória frente a cepa de *Escherichia. coli*.

Cepa	Amostra	25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39	0,19	0,09
		mg/m								
		1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>E. coli</i>	Ext	FRP	MP	MP	MP	FP	FP	FP	FP	FP
<i>E. coli</i>	Ant	FRP	FRP	FRP	FRP	FRP	FRP	MP	MP	MP
<i>E. coli</i>	Amo	FRP	MP							

“Ext”: Extrato “Ant”: Antibiótico; “Amo”: Atividade modulatória; “FRP”: Fracos produtores de biofilme; “MP”: Moderados produtores de biofilme, “FP”: Fortes produtores de biofilme.

Fonte: Própria (2020)

Estudos fitoquímicos preliminares foram realizados com o extrato etanólico das folhas de *V. globosa* encontrando flavonoides, saponinas, esteróides e triterpenos (DANTAS, 2015; CASSIANO, 2017). Dantas (2015) ainda testou o teor de flavonóides totais presentes no extrato, encontrando uma expressiva quantidade de compostos flavonóicos nele.

As propriedades antimicrobianas de polifenóis estão relacionadas à sua configuração estrutural, sendo a hidroxila (-OH) grupo responsável pela inibição (GYAWALI; IBRAHIM, 2014). De acordo com vários autores, a atividade

antimicrobiana de compostos fenólicos envolve a reação de fenóis com proteínas da membrana celular e / ou grupos de proteína sulfidríla, levando à morte bacteriana por precipitação de proteínas de membrana e inibição de algumas enzimas (ISMAIL; SESTILI; AKHTAR, 2012; GYAWALI; IBRAHIM, 2014). Assim, os polifenóis conseguem atuar positivamente como inibidores do *quórum sensing*, servindo como um agente inibidor da formação de biofilme bacteriano (LIU *et al.*, 2020).

Estudos de Jain & Parihar (2018); Borges (2019); Tao *et al.* (2021) demonstraram que os flavonóides conseguem inibir com eficiência a formação de biofilme em cepas bacterianas. Wang *et al.* (2018) observaram que os efeitos dos flavonóides é mais potente em bactérias gram-positivas do que em bactérias gram-negativas, danificando a película de proteção e a parede celular com mais voracidade. Esses estudos corroboram com os dados obtidos na literatura, confirmando a ação antimicrobiana e anti-biofilme dos flavonóides presentes nas folhas do extrato etanólico de *V. globosa* e seu maior potencial na inibição de bactérias gram-positivas em relação as gram-negativas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato etanólico de *Varronia globosa* Jacq. apresentou elevado potencial antimicrobiano e antibiofilme frente a cepa de *E. faecium*. Diferente desses resultados, ele não apresentou potencial antimicrobiano e baixo potencial antibiofilme frente a cepa de *E. coli*. Em compensação, o sinergismo entre a planta e o antibiótico resultou em um elevado potencial antibiofilme frente a cepa bacteriana de *E. coli*.

Testes futuros são necessários, com diferentes concentrações e para melhor identificar os compostos responsáveis por essa inibição, para assim os isolar e utilizar com maior eficiência, através de extratos fracionados.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida e a Universidade de Pernambuco, Campus Garanhuns, por disponibilizar toda estrutura para que essa pesquisa pudesse ser realizada.

## CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram que não possui conflito de interesse.

## REFERÊNCIAS

- ABDULHASAN, G. Synergism effect of rosemary essential oil and some antibiotic against *Escherichia coli* isolated from clinical samples. **IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 12, p. 39-42, 2017.
- ALVES, P. M. et al. Atividade antimicrobiana, antiaderente e antifúngica in vitro de plantas medicinais brasileiras sobre microrganismos do biofilme dental e cepas do gênero *Candida*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 2, p. 222-224, 2009.
- BOCANEGRA-IBARIAS, P. et al. Caracterização fenotípica e genotípica de isolados clínicos de *Enterococcus faecium* resistentes à vancomicina de dois hospitais no México: primeira detecção do fenótipo VanB-genótipo vanA. **Enfermedades Infecciosas e Microbiologia Clínica**, v. 7, pág. 415-421, 2016.
- BORGES, A. L. S. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana da quercetina bioconjugada com pontos quânticos de CdSe de tamanhos mágicos. 2019. Monografia, (Bacharel em biotecnologia) – Universidade Federal de Uberlândia.
- BUSANI, L. et al. Antimicrobial susceptibility of vancomycin-susceptible and-resistant enterococci isolated in Italy from raw meat products, farm animals, and human infections. **International journal of food microbiology**, v. 97, n. 1, p. 17-22, 2004.
- CARVALHO, J. S. B. et al. Uso popular das plantas medicinais na comunidade da Várzea, Garanhuns-PE. **Rev Biol Ciênc Terra**, v. 13, n. 2, p. 58-65, 2013.
- CASSIANO, T. T. M. **Estudo fitoquímico preliminar e triagem citotóxica do extrato etanólico bruto das folhas de *Varronia globosa* Jacq.** (BORAGINACEAE sensu lato). 2017. 41f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia)- Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2017.
- DANTAS, C. A. G. **Investigação fitoquímica e avaliação do potencial tóxico e anti-inflamatório de *Varronia globosa* Jacq.** (BORAGINACEAE). 2015. 63f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia)- Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2015.
- FERNANDES, J. B. C. et al. *Escherichia coli* da mastite clínica: sorotipos e fatores de virulência. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 23, n. 6, pág. 1146-1152, 2011.
- GAGETTI, P. et al. Resistência aos  $\beta$ -lactâmicos em enterococos. **Revista Argentina de microbiologia**, v. 2, pág. 179-183, 2019.
- GBIF (Global Biodiversity Information Facility). **GBIF secretariat: GBIF backbone taxonomy. *Varronia globosa* Jacq.** C. 2019. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF. (2019) org on 2020-10-17.

GUIMARÃES, G. et al. Caracterização fenotípica, produção de biofilme e resistência aos antimicrobianos em isolados de *Staphylococcus* spp. obtidos de casos de mastite em bovinos e bubalinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, p. 1219-1224, 2012.

GYAWALI, R; IBRAHIM, S. A. Natural products as antimicrobial agents. **Food control**, v. 46, p. 412-429, 2014.

ISMAIL, T.; SESTILI, P.; AKHTAR, S. Pomegranate peel and fruit extracts: a review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. **Journal of ethnopharmacology**, v. 143, n. 2, p. 397-405, 2012.

JAIN, A.; PARIHAR, D. K. Antibacterial, biofilm dispersal and antibiofilm potential of alkaloids and flavonoids of Curcuma. **Biocatalysis and agricultural biotechnology**, v. 16, p. 677-682, 2018.

LIMA, J. L. C. et al. Análise da produção de biofilme por isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* de pacientes com pneumonia associada à ventilação mecânica. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 29, p. 310-316, 2017.

LIU, W. et al. Tea polyphenols inhibits biofilm formation, attenuates the quorum sensing-controlled virulence and enhances resistance to *Klebsiella pneumoniae* infection in *Caenorhabditis elegans* model. **Microbial pathogenesis**, v. 147, p. 104266, 2020.

LOPES, B. C. Avaliação da capacidade de formação de biofilme de isolados de *Staphylococcus pseudintermedius* de amostras clínicas de cães em diferentes condições de pH. 2017.

MELISSA, M. et al. Antimicrobial activity of essential oil of *Cordia globosa*. **African journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 10, n. 11, p. 179-184, 2016.

NCCLS. Comitê Nacional para Padrões de Laboratórios Clínicos. *Métodos para testes de sensibilidade aos antimicrobianos de diluição para bactérias que crescem aerobicamente; padrão aprovado - sexta edição*. Documento aprovado M7-A6. Wayne, PA: (2003).

PEREIRA, J. V. et al. Efeito antibacteriano e antiaderente in vitro do extrato da *Punica granatum* Linn. sobre microrganismos do biofilme dental. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 88-93, 2006.

SANTOS, C. A. B. Reflexões sobre o uso da fauna silvestre como recurso medicinal pelos povos indígenas no semiárido nordestino. **Revista Eletrônica Científica Ensino Interdisciplinar**, v. 3, n. 8, 2017.

SANTOS, D. C.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Composição química, atividade citotóxica e antioxidante de um tipo de própolis da Bahia. **Química Nova**, v. 40, p. 171-175, 2017.

- SILVA, A. K. O. Estudo químico de espécies de Cordia (Boraginaceae): Cordia multispicata (Cham.) e Cordia globosa (Jacq.) 2013. 120 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.
- SILVA, D. M. et al. Atividade antibacteriana da Fase Clorofórmica (FC) das folhas de Varronia globosa (Boraginaceae). **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 14, n. 1, 2018.
- SILVEIRA, M; LIMA, A. A. Doenças periodontais caninas e fatores predisponentes. 2021.
- STAPP, M.N.S. *Varronia* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB105525>>. Acesso em: 09/06/2021.
- TAO, J. et al. Total flavonoids from *Potentilla kleiniana* Wight et Arn inhibits biofilm formation and virulence factors production in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Journal of ethnopharmacology**, v. 279, p. 114383, 2021.
- WANG, S. et al. Bacteriostatic effect of quercetin as an antibiotic alternative in vivo and its antibacterial mechanism in vitro. **Journal of Food Protection**, v. 81, n. 1, p. 68-78, 2018.
- WIKLER, M. A. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. **CLSI (NCCLS)**, v. 26, p. M7-A7, 2006.
- XU, Z. et al. Crystal violet and XTT assays on *Staphylococcus aureus* biofilm quantification. **Current microbiology**, v. 73, n. 4, p. 474-482, 2016.
- ZARZA, V. M. P. et al. Canine oral microbiota: A source of potentially pathogenic polyresistant bacteria. **Proceedings of Scientific Research Universidad Anáhuac**, v. 1, n. 1, p. 14-21, 2021.