

FACULDADE NOVA ESPERANÇA DE MOSSORÓ – FACENE/RN

CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

ANA CRISTINA MARTINS ROCHA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS AQUOSOS DE CORAIS  
MARINHOS DO LITORAL DE PERNAMBUCO**

MOSSORÓ

2019

ANA CRISTINA MARTINS ROCHA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS AQUOSOS DE CORAIS  
MARINHOS DO LITORAL DE PERNAMBUCO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade Nova Esperança de Mossoró – FACENE/RN, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

**Orientadora:** Prof<sup>ª</sup>. Karoline Rachel Teodósio de Melo

MOSSORÓ

2019

R672a Rocha, Ana Cristina Martins.  
Atividade antimicrobiana de extratos aquosos de corais marinhos do litoral de Pernambuco / Ana Cristina Martins Rocha. – Mossoró, 2019.  
34f. : il.

Orientadora: Prof. Dra. Karoline Rachel Teodosio de Melo.

Monografia (Graduação em Biomedicina) – Faculdade Nova Esperança de Mossoró.

1. Coral marinho. 2. *Palythoa caribaeorum*. 3. *Millepora alcicornis*. 4. Bactérias e fungos patogênicos. 5. atividade antimicrobiana. I. Melo, Karoline Rachel Teodosio de. II. Título.

CDU: 593.6:579(813.4)

Dedico esse trabalho à Deus, que sempre esteve guiando meus passos e que por muitas vezes me levou no colo nessa caminhada. Dedico a minha família, em especial meus pais, pelo incentivo, dedicação e apoio a mim. Dedico aos meus amigos de graduação pelo companheirismo e amizade em todas as horas.

## AGRADECIMENTOS

A minha orientadora e professora **Karoline Raquel** pela paciência, dedicação, compreensão e apoio, pelo estímulo e encorajamento, pelo suporte e amizade que foram de grande importância para eu concluir esse projeto.

Aos membros da Banca Examinadora professores **Almino Afonso** e **Crislânia Carla** obrigada pelas contribuições e por gentilmente terem aceitado o convite.

Aos meus pais **Maria Carmélia Martins Rocha** e **Antônio Nunes Rocha**, que acreditaram no meu sonho e apesar das dificuldades, abrindo mão dos seus compromissos, me ajudaram em tudo para eu concluir a graduação.

As meus amigos de graduação e da vida **Antônia Isabelly Bezerra**, **Beatriz Fernanda Amorim** e **Deymisson Damitene Martins Feitosa** pelos momentos felizes e pela cumplicidade nos momentos difíceis, por terem se mostrado muito mais que companheiros de graduação: verdadeiros amigos para todos os momentos, para a vida.

A todos os professores do curso que participaram do meu aprimoramento para a minha formação profissional, qualificando-me para o mercado e para a vida, em especial professor **Alexandre Janeu**, que se tornou muito mais que um professor e sim um amigo, pessoa de coração enorme e ser humano incrível, obrigada por tudo.

A todos os funcionários que compõem a Faculdade Nova Esperança de Mossoró que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

E finalmente o mais importante, à Deus pela saúde, força e sabedoria.

Saiba sempre que, a cada momento, você está fazendo uma escolha e você faz justamente aquilo que quer. A cada novo instante, use seu senso de opção, mas: Reserve tempo para trabalhar: este é o preço do êxito. Reserve tempo para pensar: é essa a fonte de poder. Reserve tempo para ler: é essa a base da sabedoria. Reserve tempo para ser amigo: é esse o caminho da felicidade. Reserve tempo para ser útil: é essa vida demasiada curta para sermos egoístas. Reserve tempo para rir: é essa a música da alma. E lembre-se: é você quem defini suas prioridades”.

(Martha Toffolo)

## RESUMO

O ecossistema marinho consiste em uma enorme diversidade de fonte de biomoléculas que pode ser utilizada para tratamento de diversas doenças. Entre os animais presentes nesse ecossistema, os recifes de corais são extremamente importantes para o ambiente marinho sendo o elo inicial na cadeia alimentar que envolve numerosas espécies de moluscos, crustáceos, peixes e outros organismos de grande importância biológica. Nesse ambiente altamente competitivo, os organismos necessitam gerar várias substâncias químicas, que são usadas como proteção, reprodução, comunicação entre outros, essas substâncias químicas tem orientado farias investigações para a busca de novas moléculas. O *Palythoa caribaeorum* é um zoantídeo que produz um muco, conhecido popularmente como baba de boi, cuja principal função é proteger a colônia contra dessecação e patógenos. O hidróide do gênero *Millepora alcicornis*, conhecido como “coral-de-fogo”, é membro claramente visível nos recifes de coral onde ocupa uma variedade de substratos e produz esqueletos complexos. Esse fato vem despertando o interesse por estudos que desvendem suas propriedades biológicas. Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos aquosos dos corais *Palythoa caribaeorum* e *Millepora alcicornis*. Para tal, a atividade antimicrobiana foram testadas *in vitro* contra as bactérias patogênicas gram-positivas *Staphylococcus aureus* e contra as bactérias patogênicas Gram-negativas *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* em conformidade com as diretrizes fornecidas pelo Clinical & Laboratory Standards Institute. Os resultados demonstraram que ambas as espécies de coral contêm variações de biomoléculas, de acordo com o método de extração. A espécie de coral *Millepora alcicornis* não teve atividade antimicrobiana para nenhuma das cepas testadas, já a espécie *Palythoa caribaeorum* teve atividade inibitória para as cepas das bactérias *Escherichia coli*, onde o melhor resultado foi no banho de ultrassom no tempo de 5 minutos com 8,2% de inibição e *Klebsiella pneumoniae* também no tempo de 5 minutos de banho de ultrassom com 5,0% de inibição. Podendo ser considerado um resultado relevante, considerando a dificuldade em se encontrar na natureza antimicrobiana para bactérias Gram negativas.

**Palavras-chaves:** Coral marinho, *Palythoa caribaeorum*, *Millepora alcicornis*, bactérias patogênicos, atividade antimicrobiana.

## LISTA DE FIGURA

FIGURA 1: Tipos morfológicos de corais .....	10
FIGURA 2: Recife em Fernando de Noronha (PE).....	11
FIGURA 3: Espécie <i>Millepora alcicornis</i> .....	13
FIGURA 4: Espécie <i>Palythoa caribaeorum</i> .....	14

## LISTA DE TABELA

TABELA 1: Gêneros de micro-organismos bacterianos representativos na da microbiota normal de humanos.....	15
TABELA 2: Número de IrAS em unidades de terapia intensiva nos Estados Unidos por local de ocorrência e organismo .....	17
TABELA 3: Comparação das quantificações da caracterização química realizado por dois métodos: Banho Ultrassônico em tempos diferentes e maceração das espécies de corais <i>Millepora alcicornis</i> e <i>Palythoa caribaeorum</i> .....	24
TABELA 4: Atividade antimicrobiana dos extratos aquosos da espécie de coral <i>Palythoa caribaeorum</i> contra bactérias patogênicas.....	25

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	6
<b>1.1 Justificativa</b> .....	7
<b>1.2 Hipóteses</b> .....	8
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	9
<b>2.1 Objetivos Gerais</b> .....	9
<b>2.2 Objetivos Específico</b> .....	9
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	10
<b>3.1 Corais Marinhos</b> .....	10
3.1.1 Espécies de corais <i>Millepora alcicornis</i> e <i>Palythoa caribaeorum</i> .....	12
<b>3.2 Bactérias Patogênicas</b> .....	14
<b>3.3 Resistência Antimicrobiana</b> .....	17
<b>3.4 Extratos Marinhos</b> .....	18
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	21
<b>4.1 Materiais e Métodos</b> .....	21
4.1.1 Espécime .....	21
4.1.2 Obtenção dos extratos .....	21
4.1.3 Caracterização química .....	22
4.1.4 Avaliação da capacidade antimicrobiana .....	22
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	23
<b>5.1 Obtenção dos extratos</b> .....	23
<b>5.2 Caracterização química</b> .....	23
<b>5.3 Capacidade antimicrobiana</b> .....	24
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	26
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	27

## 1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a química de produtos naturais derivados de organismos marinhos, se tornou foco de pesquisa na área alimentícia, médica, farmacêutica e biotecnológica. Isto é devido ao crescente reconhecimento desses organismos como uma fonte de compostos nutracêuticos, cosmeceuticos e de interesse biomédico. (ALVES, 2014)

Por causa das condições físicas e químicas do ambiente marinho, quase todas as classes de organismos que vivem nesse ambiente possuem a capacidade de produzir uma variedade de moléculas com características estruturais únicas. (ALVES, 2014)

Em meados das décadas de 70 e 80 com acesso a novas tecnologias de mergulho, muitos organismos marinhos foram descobertos e passaram a fazer parte das bancadas de laboratório dos cientistas de todo o mundo, entre estes os corais marinhos. Os corais tem desempenhado um importante papel ecológico, uma vez que: Constituem habitats indispensáveis para invertebrados e peixes, provêm energia para herbívoros, contribuem fortemente para a cadeia alimentar bentônica, atuam como modo de dispersão para ovos de peixes, ocupam vários nichos ecológicos e são bioindicadores de mudanças climáticas. (SOARES; RABELO, 2014)

Além da importância ecológica, os ambientes coralíneos, devido à alta complexidade das suas espécies por viverem presas em um habitat densamente povoados onde a competição por recurso, tais como espaço e alimento são intensos, geram várias substâncias químicas, que são usadas como proteção, reprodução, comunicação entre outros, (CASTRO; ZILBERBERG, 2016) essas substâncias químicas tem orientado várias investigações para a busca de novas moléculas, possíveis de serem utilizadas no desenvolvimento de novos fármacos e terapias. (ALVES, 2014). Essas enormes reservas de compostos bioativos são muito pouco explorados, ou ainda inexplorados. (ALVES, 2014)

Segundo Rodrigues (2015) os organismos marinhos são ricos em variedades de metabolitos secundários entre eles polissacáridos, glicoproteínas, fenóis, terpenos, alcaloides, esteroides etc., que ofertam uma gama de

atividades metabólicas. Posto isto, o exposto trabalho tem o objetivo de obter metabolitos de corais marinhos para investigar sua possível ação antimicrobiana.

### **1.1 Justificativa**

Desde o século passado existe uma enorme preocupação com o aumento expressivo de micro-organismos patogênicos como bactérias e fungos associados a doenças principalmente relatados em ambientes hospitalares. Com isso, a necessidade de encontrar novos compostos que sejam efetivos contra esses patógenos se faz necessária uma vez que estes estão desenvolvendo antibióticos convencionais e outros agentes antimicrobianos.

Os produtos naturais derivados de organismos marinhos, o qual já contribuiu com diversas fontes de compostos no tratamento de diversas patologias, vêm sendo os mais estudadas dentre os produtos naturais, (CHAVES et al, 2010) sob este enfoque destaca-se os corais marinhos.

Sendo assim, faz-se necessário pesquisar as características químicas destes seres vivos e sua possível atividade antimicrobiana que possam ser útil em composições de novos fármacos. Uma vez que se trata de recurso natural somando tecnologia e ciência a favor de prevenção de doenças.

## 1.2 Hipóteses

H<sub>0</sub> Os extratos aquosos das espécies de corais *Millepora alcicornis* e *Palythoa caribaeorum* não tem efeito antimicrobiano.

H<sub>1</sub> Os extratos aquosos das espécies de corais *Millepora alcicornis* e *Palythoa caribaeorum* tem efeito antimicrobiano.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar atividade antimicrobiana de extratos aquosos das espécies de corais *Millepora alcicornis* e *Palythoa caribaeorum* encontradas no litoral de Pernambuco.

### **2.2 Objetivo específicos**

1. Obter extratos aquosos das duas espécies de corais do litoral de Pernambuco;
2. Caracterizar quimicamente os extratos aquosos extraídos;
3. Avaliar as atividades antimicrobiana dos extratos aquosos obtidos;

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Corais marinhos

Dá-se o nome de corais a um grupo de animais marinhos primitivos, da classe Antozoários do filo Cnidários. Eles vivem em ambientes muito restritos, em mares tropicais de águas quentes (acima de 20°) e claras, portanto, calmas e rasas (menos de 40 m de profundidade). Isso torna-os excelentes indicadores das condições ambientais, acusando com clareza a ocorrência de desequilíbrios nas condições do ambiente em que vivem. (CASTRO; ZILBERBERG, 2016)

Os corais existem a mais de 250 milhões de anos e constituem um ecossistema marinho abrigoando uma biodiversidade surpreendente de espécies, atuando com uma enorme importância ecológica para o meio ambiente, pois em uma área de recifes de corais podem existir centenas e milhares de outras espécies marinhas que ali buscam alimento e abrigo, (CASTRO; ZILBERBERG, 2016) como peixes, moluscos, crustáceos, cnidários e algas, além de proteção contra correntes marinhas e predadores. Estes seres além de terem grande importância para diversos organismos também participam da sustentabilidade econômica de pessoas e comunidades que usam estes como alimento e fonte de renda. (TORRES, 2016)

Como mostrado na figura 1, existem dois tipos morfológicos de indivíduos: os pólipos e as medusas. Os pólipos são organismos sésseis, ou seja, vivem fixo a um substrato e as medusas são organismos livres e nadantes. São invertebrados (não possuem espinha dorsal) por baixo do tecido são constituídos por um esqueleto calcárioo (como nossos ossos) ou córneo (como nossas unhas). Este esqueleto é responsável pela fixação do coral no fundo do mar e serve também como proteção. (ICMBio, 2007)

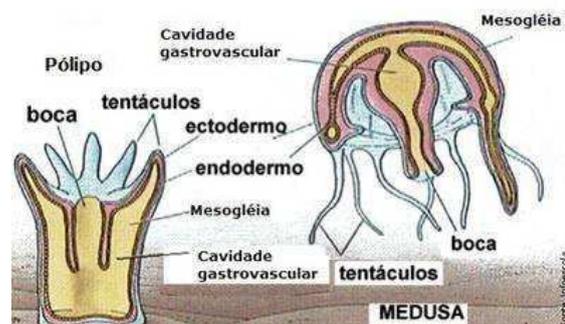


Figura 1: Tipos morfológicos de corais

Fonte: <http://www.infoescola.com>

O corpo dos corais é chamado de pólipos, uma estrutura cilíndrica em forma de saco com uma cavidade interna que se abre apenas em uma extremidade: a boca. Rodeado por tentáculos, a boca age tanto na ingestão de alimentos, como na eliminação de resíduos. Os tentáculos são estruturas com grande número de células chamadas de cnidócitos, que contêm substâncias urticantes e paralisantes que serve para capturar presas e defender o pólipo. (BORGES, 2014)

No interior do tecido do coral vivem várias algas microscópicas chamadas zooxantelas. Estas algas possuem uma relação de simbiose com coral, na qual a alga fornece ao pólipo alimento através do processo de fotossíntese e, em troca, recebe proteção e nutrientes. Além de suprir as demandas energéticas as zooxantelas é um componente importante para a formação de recifes, pois aumenta a taxa de calcificação dos corais. (CASTRO; ZILBERBERG, 2016)



Figura 2: Recife em Fernando de Noronha (PE).

Fonte: Foto: Divulgação/Zaira Matheus

Os recifes de corais (Figura 2) são formações construídas a partir da deposição de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ), que é secretado pelos corais através da fotossíntese das microalgas zooxantelas, quando os corais morrem, novas colônias crescem por cima dos esqueletos que ficaram. Por isso, um recife de coral é composto por camadas muito finas de carbonato de cálcio resultante da sobreposição dos esqueletos das sucessivas gerações de corais, formando,

com o tempo, os paredões calcários que chamamos de recife, num processo de milhares de anos. (SEOANE; BARBOSA 2016) é um ambiente rico em biodiversidade, servido de local para reprodução, proteção e alimentação de muitas espécies, abrigam também uma diversidade de plantas e animais. (SANTOS, 2019).

Os corais são encontrados em mais de cem países e territórios diferentes, a diversidade de espécies difere entre região, onde o Mar Vermelho, Oceano Índico, Sudeste Asiático e Oceano Pacífico contribuem com a maior parte, abrigando 91,9% das espécies. Em contrapartida os recifes do Oceano Atlântico e do Mar do Caribe possuem uma diversidade mas baixa com 7,6% do total. (CASTRO; ZILBERBERG, 2016) No Brasil, os recifes de coral se distribuem por aproximadamente 3 mil km de costa, do Maranhão ao Sul da Bahia, representando as únicas formações recifais do Atlântico Sul. (PIRES et al, 2016)

Vários autores destacaram a importância biológica dos recifes de coral por serem os ecossistemas marinhos de maior diversidade, considerado mais elevado do que nas florestas tropicais. A maioria das espécies de coral que formam esses recifes, são endêmicas de águas brasileiras, ou seja, contribuem na formação de estruturas que só são vistas aqui. (TORRES, 2016) Em termos físicos, protegem as regiões costeiras da ação de ondas e tempestades, incluindo diversas áreas do litoral brasileiro. A enorme diversidade e abundância de organismos presentes, produz uma teia alimentar de grande complexidade. Essa teia culmina nos grandes predadores, que incluem muitos peixes utilizados para a alimentação humana. Nesse sentido, os recifes funcionam como verdadeiros criadouros de peixes, renovando estoques e, principalmente no caso de áreas protegidas, favorecendo a reposição de populações de áreas densamente exploradas. (OLIVEIRA; CORREIA, 2013)

### 3.1.1 Espécies de corais *Millepora alcicornis* e *Palythoa caribaeorum*

Dentre os organismos formadores dos recifes brasileiros, o hidróide calcário zooxantelado do gênero *Millepora*, conhecido como “coral-de-fogo”, é membro claramente visível nos recifes de coral onde ocupa uma variedade de substratos e produz esqueletos complexos. Os corais-de-fogo podem causar queimaduras dolorosas devido à presença de nematocistos de forte ação. O

contato acidental é muito comum, pois este hidróide é frequentemente confundido com uma alga marinha. (ROJAS et al., 2002)

O gênero *Millepora* ocorre em mares tropicais de todo o mundo entre as profundidades de menos de 1 até cerca de 40 metros. A espécie *Millepora alcicornis*, alvo do presente estudo, possui crescimento ramificado e coloração laranja-amarronzada parda. (Figura 3). Estes organismos, notadamente conhecidos como construtores recifais, são comuns nas bordas dos recifes. Apesar de sua importância, poucos trabalhos foram realizados com este grupo, havendo informação escassa sobre as *Milleporas*. (AMARAL et al, 2002)



Figura 3: Espécie *Millepora alcicornis*

Fonte: [/www.imgrumweb.com/hashtag/recifesdecorais](http://www.imgrumweb.com/hashtag/recifesdecorais)

Na espécie *Palythoa caribaeorum* os pólipos estão conectados por um espesso tecido chamado cenénquima, o qual também agrega partículas na sua superfície. Estas colônias formam extensos “tapetes” localizados nas áreas submersas, mas quando estão expostos durante a maré baixa, seus pólipos produzem um muco, que protege a colônia da dessecação, conhecido popular de “baba-de-boi”. Relatos populares, principalmente de pescadores, estimulam o estudo farmacológico e toxicológico, já que seu muco é usado entre eles, sendo aplicado diretamente sobre as feridas e/ou pancadas. (SOARES et al, 2006)



Figura 4: Espécie *Palythoa caribaeorum*

Fonte: [www.instasaver.org/naturezaperfeita](http://www.instasaver.org/naturezaperfeita)

O estudo químico com cnidários teve grande impulso durante a década do 60 com o descobrimento das prostaglandinas em várias espécies de corais do Caribe. Desde então, ficou em evidencia o potencial destes organismos como produtores de compostos de interesse biológico e farmacológico. (CORREIA et al, 2002)

Existem muitos exemplos de corais que possuem atividade biológica ou farmacológica. Rinehart et al, (1981) estudaram a atividade antiviral, antimicrobiana e antineoplásica dos produtos extraídos 142 espécies de corais. Venkateswarlu et al. (1998) encontrou atividade antibacteriana de metabólitos secundários em espécies de zoantídeos; Kuramoto et al. (1998) isolaram um alcalóide com atividade inibidora da osteoporose de uma espécie do gênero *Zoanthus* e Grace e Jacobs (1998) descobriram atividade anti-inflamatória e analgésica num alcalóide extraído de *Zoanthus sp.*

### 3.2 Bactérias Patogênicas

Os organismos multicelulares de uma maneira geral, vivem em forte cooperação com os micro-organismos ao redor e também com os seres humanos. O corpo humano, por exemplo, pode ser ocupado por um grande

número de bactérias, fungos, vírus e eucariontes unicelulares (SEKIROV et al., 2010). A flora bacteriana normalmente encontrada nos seres humanos pode ser extremamente complexa sendo composta por mais de 200 espécies bacterianas. Calcula-se que o ser humano normal possua aproximadamente 10<sup>12</sup> bactérias sobre a pele, 10<sup>10</sup> na boca e 10<sup>14</sup> no trato gastrointestinal (TODAR, 2012). A Tabela 1 exhibe alguns dos principais gêneros de micro-organismos normalmente encontrados em associação com as superfícies corporais. As superfícies mucosas, por exemplo, proporcionam a presença de uma microbiota distinta pelo fato de oferecerem um ambiente protegido e úmido, bem como uma grande área superficial total (MANDIGAR et al, 2010).

Sítio anatômico	Gêneros ou grupos principais
Pele	<i>Enterobacter, Klebsiella, Proteus, Pseudomonas, Staphylococcus, Streptococcus</i>
Boca	<i>Streptococcus</i>
Trato respiratório	<i>Streptococcus, Staphylococcus</i>
Trato gastrintestinal	<i>Streptococcus, Escherichia, Klebsiella, Proteus, Staphylococcus, Enterococcus</i>
Trato urogenital	<i>Streptococcus, Escherichia, Klebsiella, Proteus, Staphylococcus</i>

Tabela 1. Gêneros de micro-organismos bacterianos representativos da microbiota normal de humanos.

Fonte: Adaptada de Mandigan (2010).

Dentre os benefícios desses micro-organismos para o ser humano destacam-se o impedimento da colonização por patógenos competindo por locais de fixação ou por nutrientes essenciais. Adicionalmente, o estímulo do desenvolvimento de determinados tecidos, onde se destacam alguns tecidos linfáticos no trato gastrointestinal e o órgão vestigial ceco. Por fim, o estímulo da produção de anticorpos com reatividade cruzada, ou seja, habilidade de um sítio de combinação de anticorpo em particular de reagir com mais de um

determinante antigênico ou a habilidade de uma população de moléculas de anticorpos de reagir com mais de um antígeno (MAYER, 2009).

Por outro lado para muitas bactérias, o corpo humano pode não ser o local ideal para que elas possam se estabelecer, pois algumas necessitam de oxigênio e no interior das células a concentração desse elemento é inferior à do ar. Ainda, existe um grupo de bactérias anaeróbicas obrigatórias que não suportam a presença de oxigênio (MANDIGAN et al., 2010). Além destes fatores, o nosso organismo possui mecanismos de defesa contra micro-organismos tais como, a presença de sal em nossa pele e a falta de ferro que pode ser inacessível para a maioria dos microrganismos em nosso corpo consistindo em um elemento essencial uma vez que atua como co-fator para muitas proteínas como a hemoglobina (WASSENAAR, 2012). Os micro-organismos encontrados em humanos, em muitos casos não apresentam malefícios sendo muitas vezes necessários na manutenção da saúde e bem estar. Contudo, outros micro-organismos, conhecidos como patógenos são responsáveis por colonizar, invadir e causar danos ao corpo humano por meio de mecanismos diretos e indiretos dando início a processos de doenças infecciosas (MANDIGAN et al., 2010).

Os micro-organismos envolvidos em IrAS (infecções relacionadas à assistência à saúde) são comumente encontrados na flora microbiana normal de indivíduos sadios. Entretanto, com alguma frequência, esses micro-organismos, tornam-se patogênicos quando se multiplicam em locais normalmente estéreis, como o trato respiratório inferior ou o sangue (LIPSITCH et al., 2000). Apesar de toda exposição, o trato respiratório inferior, por exemplo, permanece estéril devido a uma abundância de mecanismos que protegem as vias aéreas da aderência bacteriana e dos fatores de virulência como, por exemplo, a presença de células ciliadas das superfícies mucosas ou pêlos (cílios) que dificultam a fixação de micro-organismos (MANDIGAN et al., 2010).

Os patógenos mais frequentes em IrAS (infecções relacionadas à assistência à saúde) podem ser transferidos ao indivíduo tanto pela via endógena, ou seja, pela microbiota particular do paciente quanto pela via exógena, que abrange veículos como as mãos, secreção salivar, fluídos corpóreos, ar e materiais contaminados, dentre as quais pode-se citar os

equipamentos e instrumentos empregados em procedimentos médicos. Muitos destes processos são invasivos, isto é, atravessam as barreiras de proteção do corpo humano de modo a elevar o risco de infecção (MANDIGAN et al., 2010). Algumas dessas espécies patogênicas causadoras destas infecções estão descritas simplificadaamente na Tabela 2 que mostra os patógenos e sua ocorrência na corrente sanguínea, casos de pneumonia e trato urinário em UTI nos EUA (MANDIGAN ET AL., 2010). Podemos observar que as infecções podem ser causadas por um número relativamente pequeno de patógenos que estão presentes em quase todos locais aonde são capazes de produzir patologias.

Patógeno	Corrente sanguínea	Pulmão	Trato urinário
<i>Enterobacter</i> spp.	1.083	4.444	1.560
<i>Escherichia coli</i>	514	1.725	5.393
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	735	2.865	1.891
<i>Haemophilus influenzae</i>	ND	1.738	ND
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	841	6.752	3.365
<i>Staphylococcus aureus</i>	2.758	7.205	497
<i>Staphylococcus</i> spp.	8.181	ND	838
<i>Enterococcus</i> spp.	2.967	682	4.226
<i>Candida albicans</i>	1.090	1.862	4.856
Outros patógenos	3.774	12.537	8.075
<b>Número total*</b>	<b>21.943</b>	<b>39.810</b>	<b>30.701</b>
<b>Total (%)</b>	<b>23,7</b>	<b>43,1</b>	<b>33,2</b>

Tabela 2. Número de IAS em unidades de terapia intensiva nos Estados Unidos por local de ocorrência e organismo.

Fonte: Registro do Sistema Nacional de Vigilância de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde, Centro de Controle e Prevenção de Doenças, Atlanta, Georgia, EUA. Adaptada de Mandigan (2010).

### 3.3 Resistência Antimicrobiana

Os microrganismos patogênicos estão cada vez mais resistentes aos tratamentos com drogas convencionais, tornando-se um sério problema de saúde pública, por causa da rápida ascensão e disseminação de linhagens mutantes não suscetíveis ao tratamento médico (MANIKANDAN et al. 2011). Na definição de resistência bacteriana consideram-se os aspectos clínicos e laboratoriais do uso de antibióticos. A partir de resultados laboratoriais do teste

do antibiótico contra a bactéria, a resistência significa que o micro-organismo tem a capacidade de crescer *in vitro* na existência da concentração que essa droga chega ao sangue (BARROS et al., 2008).

A resistência bacteriana pode ser intrínseca (natural) ou adquirida. A intrínseca corresponde a uma característica da espécie bacteriana, que “naturalmente” cria uma barreira de permeabilidade contra o antibiótico, como por exemplo, a presença de membrana externa nas bactérias Gram-negativas (JAWETZ et al. 2009). Ainda se refere ao gênero e algumas vezes espécie-específica, o que define o espectro de ação do antibiótico. A resistência bacteriana adquirida corresponde a uma característica da espécie resultante da alteração do material genético existente ou a aquisição de novo material genético de outra fonte. Ela pode ser revelada em apenas algumas cepas de uma mesma espécie bacteriana resultando da mutação ou desrepressão (na inativação do gene repressor, o gene operador torna-se ativo novamente, fazendo com que se manifeste a resistência não só à droga em uso, mas também a outros antibióticos). Este tipo de resistência já foi descrito em praticamente todas as espécies de bactérias, conhecendo-se detalhes dos mecanismos de aquisição e os mecanismos moleculares da manifestação da resistência (GOERING et al. 2014)

Segundo MADIGAN et al. (2010), em muitos casos, estas bactérias e fungos podem desenvolver resistência simultânea de duas ou mais classes de antibióticos o que faz com que o tratamento de infecções causadas por estes micro-organismos se torne extremamente difícil.

### **3.4 Extratos Marinhos**

As grandes companhias começaram a colaborar, disponibilizando investigadores conceituados e foi dado um grande passo quando através de um Programa Cooperativo de Descoberta de Fármacos do Instituto Nacional do Câncer, dos Estados Unidos da América (EUA), se descobriu que os bioensaios realizados com extratos de organismos marinhos possuíam mais potencial em obter medicamentos anticancerígenos, do que os de origem natural terrestres (GLASER E MAYER, 2009).

A aprovação de extratos marinhos para uso terapêutico, dá-se após muitos anos de investigação, onde cerca de 70% destes metabolitos são obtidos a partir de esponjas marinhas, corais e microrganismos, enquanto organismos como moluscos, ascídiase algas contribuem apenas com 30%. A grande vantagem dos PNM (Produtos Naturais Marinhos) com relação aos PNT (Produtos Naturais Terrestres), está na sua baixa dose/efeito, na melhor seletividade contra alvos malignos dos tecidos e na fraca vulnerabilidade de resistência desenvolvida, o que torna estes produtos em moléculas-alvo bastante atrativas (VINOCHKUMAR E PARAMESWARAN, 2013)

As moléculas de origem marinha, têm-se mostrado extremamente potentes, o que reforça ainda mais a hipótese da sua função protetora, já que elas devem superar a incrível capacidade de se diluir na água do mar para alcançar o seu alvo e produzir efeito. Os PNM possuem metabolitos com estruturas muito características, uma seletividade bem marcada na diversidade de alvos moleculares, que aumenta o seu potencial farmacológico e terapêutico de forma exponencial. Os canais iônicos, as enzimas, os microtúbulos, o ADN, os lisossomas, a calmodulina e os proteossomas, em conjunto com a indução de stress oxidativo e a modulação do sistema imunológico, são os principais alvos terapêuticos observados nos protótipos em fase de testes clínicos e apresentam especial importância no tratamento de neoplasias, onde podemos observar um maior impacto dos PNM (HAEFNER, 2003).

No processo de transformação das “armas químicas” dos organismos marinhos em fármacos para uso humano, essa particularidade repercute-se na alta toxicidade destas moléculas, ou em intoleráveis efeitos secundários. No entanto, o baixo rendimento destas substâncias, a frequente complexidade estrutural dos produtos naturais e as consequentes dificuldades de síntese, são características que dificultam o desenvolvimento dos novos fármacos de origem marinha (HAEFNER, 2003).

À primeira vista, o sucesso parece garantido, sendo que nos últimos anos, o potencial dos microrganismos marinhos foi reconhecido como uma

nova fonte de produtos farmacêuticos, como por exemplo, novos antibióticos para combater a resistência das bactérias e patologias aos antibióticos existentes. A esqualamina, isolada do tubarão *Squalus acanthias*, com uma potente atividade antimicrobiana contra os *Staphylococcus aureus*; a cribrostatina isolada da esponja marinha *Cribrochalina sp.*, com atividade contra a *Neisseria gonorrhoeae*; ou a bromosphaerone um diterpeno com uma potente atividade antibacteriana presente na alga vermelha *Sphaerococcus coronopifolius*, são exemplos disso (MAYER et al., 2010).

A síntese orgânica de PNM, sempre foi um desafio para os investigadores, devido à generalidade de estruturas complexas e de elevada quiralidade, estruturas otimizadas pela seleção do meio ambiente a exercer pressão durante milhões de anos, utilizando múltiplas sínteses enzimáticas de forma a produzir funções biológicas ótimas, fornecendo às espécies como que um kit de sobrevivência. O uso potencial de combinações de peptídeos conhecidos, no intuito de diversificar e otimizar novas moléculas junto com métodos inovadores, tem um enorme potencial na obtenção de novas terapêuticas baseadas em PNM (GLASER E MAYER, 2009).

## 4. METODOLOGIA

Trata-se de uma pesquisa de caráter experimental e exploratória, tomando como base estudos publicados na literatura.

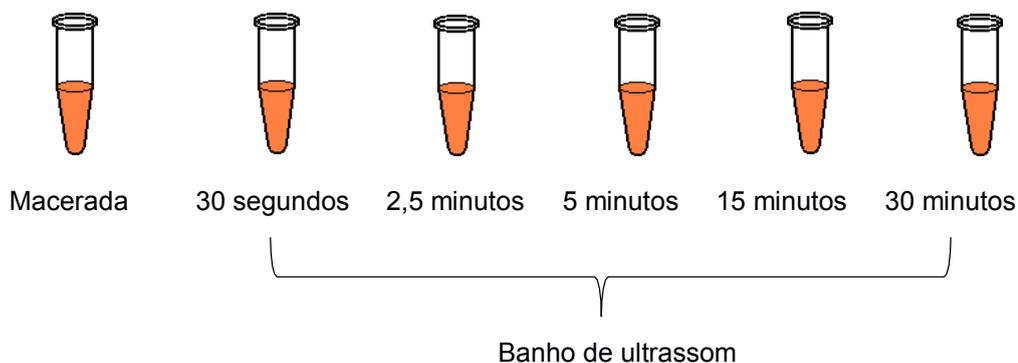
### 4.1 Materiais e métodos

#### 4.1.1 Espécime

Os corais da espécie *Millepora alcicornis* e *Palythoa caribaeorum* foram doados para este projeto de pesquisa por pesquisadores da LABENZ da UFPE os quais trabalham com cultivos de corais em extinção. Os fragmentos das espécies foram embalados em sacos plásticos individuais acondicionados em banho de gelo para transporte e em laboratório conservados em freezer.

#### 4.1.2 Obtenção dos extratos

A preparação dos extratos foi realizado adaptado da metodologia de Shen e Boyle, 1988. Onde foi testado dois métodos de extração: Macerado e Banho de ultrassom. Foi pesado em balança de precisão seis amostras de cada espécie contento massa de 200mg, em cada amostra foi adicionado 1ml do tampão Tris Hcl.



Primeira amostra foi maceração com auxílio do almofariz e pistilo e as demais passou pelo processo de banho ultrassônico em temperatura 60°C, em tempos pré-definidos em estudos com corais marinhos pela LABENZ da UFPE como mostra a ilustração acima, em seguida centrifugados a 15.000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante da centrifugação foi coletado e armazenado em freezer para ser utilizado nos experimentos seguintes. Todo o estudo foi feito em duplicata

#### 4.1.3 Caracterização química

A caracterização dos extratos foi feita através do Kit interteck Katal pelo método colorimétrico, medindo a absorbância em espectrofotômetro, onde foi pesquisado: Glicose, Magnésio, Cálcio e Ferro de acordo com os parâmetros de cada kit. A caracterização da proteína foi adaptada pelo método Bradford onde foi adicionado 1ml do tampão de Bradford + 1ml de água Milli-Q à 100µL da amostra, a reação foi incubada por 5 minutos, em seguida medido a absorbância em espectrofotômetro.

#### 4.1.4 Avaliação da capacidade antimicrobiana

Os extratos aquosos dos corais foram testados *in vitro* contra as bactérias patogênicas gram-positivas *S. aureus* e contra as bactérias patogênicas Gram-negativas *K. pneumoniae* e *E. coli*. Os ensaios foram conduzidos em placas de microtitulação de fundo plano de poliestireno com 96 poços, em conformidade com as diretrizes fornecidas pelo Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI, <https://clsi.org/>). Uma alíquota (100 µL) do meio de cultura de caldo Mueller Hinton contendo células bacterianas (0,080 unidade de absorbância a 630 nm) foi incubada no escuro, a 37 °C, com 100 µL dos respectivos extratos proteicos preparado em NaCl 500 mM. Os valores de absorbância foram obtidos a 630 nm após 0 (controle) 1, 2, 3, 4 e 5 h de contato usando um leitor de microplacas de absorbância automatizado (Epoch, BioTek Instruments Inc., EUA). O controle negativo (crescimento de 100%) consistiu nas células bacterianas incubadas na presença de 100 µL de solução salina 500 mM e o controle positivo (inibição de 100%) consistiu nas células bacterianas suspensas no meio de cultura contendo 100 µL de Norfloxacin (780 mM), um agente antibacteriano sintético. O cálculo do percentual de inibição foi realizado tomando como base o tempo de 5h, a partir da seguinte equação:

$$100 - \left( \frac{OD_{amostra} \times 100}{OD_{CN}} \right)$$

Sendo CN= controle negativo OD= densidade óptica.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Obtenção dos extratos

Diferente de outros organismos biomonitorios, como ostras e mariscos, a coleta, o preparo e a determinação de elementos em amostras de coral é complexa. A rotina de coleta de amostras inclui muitas etapas de manipulação, as quais são importantes fontes potenciais de contaminação.

Segundo Gilmaria et al, 2012 para a remoção dos tecidos, podem ser utilizadas soluções oxidantes, em banho ultrassônico, que atuam na degradação da matéria orgânica, entando em concordância com o método usado neste experimento. Este é um ponto que deve ser melhor investigado para que os resultados das análises químicas não representem concentrações subestimadas dos analitos na matriz carbonática.

No processo de maceração Gilmaria et al, 2012 relata, que pode ser usado o gral e o pistilo para macerar a amostra, como foi utilizado neste experimento, no entanto o uso de moinho produz partículas finas e relativamente mais homogêneas, de forma que, apesar de pouco utilizado, a maceração com o moinho seria mais recomendado.

Infelizmente, em muitos destes artigos, as informações sobre as condições experimentais são muitas vezes insuficientes para a reprodução do procedimento empregado. Isto se deve, em parte, aos artigos de corais serem, principalmente, de cunho ambiental.

### 5.2 Caracterização química

Com relação aos testes feitos para a pesquisa de glicose, magnésio, cálcio, ferro e proteínas das espécies de corais *Millepora alcicornis* e *Palythoa caribaeorum* foi possível estimar os seguintes resultados.

**Tabela 3:** Comparação das quantificações da caracterização química realizado por dois métodos: Banho Ultrasonico em tempos diferentes e maceração das espécies de corais *Millepora alcicornis* e *Palythoa caribaeorum*.

	Glicose mg/dl		Ferro mg/dl		Proteína mg/dl	
	Millepora	Palythoa	Millepora	Palythoa	Millepora	Palythoa
30 segundos	26,6	88,8	12,9	82,4	0,5	24,5
2,5 minutos	32,1	93,9	26,3	84,4	2,9	31,1
5 minutos	18,7	89	66,4	109,2	1,6	29,5
15 minutos	23,6	88,8	107,6	85	0,4	31,5
30 minutos	22,5	92	29,6	82,4	1,7	29,2
Macerado	24,3	100	34,5	225	1,4	54,7

	Cálcio mg/dl		Magnésio mg/dl	
	Millepora	Palythoa	Millepora	Palythoa
30 segundos	7,3	8,5	0,7	3,7
2,5 minutos	7,6	8,6	0,7	3,6
5 minutos	7,7	8,1	0,5	3,8
15 minutos	7,4	8,6	0,7	3,6
30 minutos	7,3	8,8	1,5	3,6
Macerado	10,2	10,7	1,3	3,8

A Tabela 3 mostra os valores de quantificação da caracterização química de cada espécie na qual pode-se observar uma heterogeneidade entre os resultados e entre os métodos, mostrando variações entre a quantidade de glicose, magnésio, cálcio, ferro e proteínas de cada espécie apresentada em cada um dos métodos.

Com base nos resultados acima a espécie *Palythoa caribaeorum* foi a que mostrou resultados um pouco mais significativos no ferro, glicose e proteína, e onde entre os dois métodos propostos a técnica do macerado mostrou-se mais adequada.

Não existe trabalhos com corais marinhos sobre a informação da caracterização química, no entanto foi realizado trabalhos com algas marinhas e segundo Gressler, 2010 de uma maneira geral as algas são ricas em proteínas e carboidratos, desta forma, conclui-se que para este fim precisa-se de mais estudos em corais marinhos para se caracteriza adequadamente a espécie.

### 5.3 Capacidade Antimicrobiana

A espécie de coral *Millepora alcicornis* não teve atividade antimicrobiana para nenhuma das cepas testadas, já a espécie *Palythoa caribaeorum* como mostrado na tabela 4, a formação do alo de inibição ocorreram para a cepa das

bactérias *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* nos tempos de 5 e 15 minutos, por outro lado a cepa da bactéria *Staphylococcus aureus* não teve atividade inibitória detectada.

**Tabela 4:** Atividade antimicrobiana dos extratos aquosos da espécie de coral *Palythoa caribaeorum* contra bactérias patogênicas.

Extratos aquosos	E. coli	K. pneumoniae	S. aureus
30 segundos	ND	ND	ND
2,5 minutos	ND	ND	ND
5 minutos	22±8,2%	12±5,0%	ND
15 minutos	50±7,6%	39±3,9%	ND
30 minutos	ND	ND	ND
Macerado	ND	ND	ND

Legenda: Os dados são representativos de três experimentos. ND = atividade inibitória não detectada. % de Inibição é calculado com base na inibição do crescimento bacteriano em 5 tempos: (1, 2, 3, 4 e 5 horas)

Barbosa et al, 2016 relata que a *Escherichia coli* é uma bactéria do trato intestinal, considerada como um patógeno oportunista, causa a maioria das infecções do trato urinário. A *Klebsiella pneumoniae* é uma bactéria importante da família das Enterobactérias. A sua implicação maior é infecções hospitalares (aparelho urinário e feridas) principalmente em pacientes imunocomprometidos com HIV.

Em concordância com nosso resultado Marlllyn, 2016 verificou que o extrato do *Palythoa caribaeorum* possui características antimicrobianas, principalmente contra o crescimento de *Klebsiella pneumoniae* e a *Escherichia coli*.

Isso nos indica que o extrato de organismos marinhos são moléculas promissoras e uma alternativa aos antibióticos comuns, confirmando os resultados que obtivemos com o extrato da espécie *Palythoa caribaeorum*. Podendo ser considerado um resultado relevante, considerando a dificuldade em se encontrar na natureza antimicrobiana para bactérias Gram negativas.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através da pesquisa foi apontado que o extrato das espécies de corais estudadas contém glicose, proteínas e íons ferro, cálcio e magnésio em diferentes concentrações de acordo com a metodologia de extração utilizada. A espécie de coral *Millepora alcicornis* não teve atividade antimicrobiana para nenhuma das cepas testadas, no entanto o extrato da espécie de coral *Palythoa caribaeorum* possui características antimicrobiana, principalmente contra o crescimento de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Isso nos indica que o extrato de organismos marinhos são moléculas promissoras e uma alternativa aos antibióticos comuns. Contudo é importante a realização de novos estudos de uma análise quantitativa no que se refere a caracterização química das espécies. Aponta-se a importância de repetir os testes usando outra metodologia de extração.

Por isto, os resultados alcançados incentivam a continuação da pesquisa dos compostos do extrato de corais marinhos, a fim de identificar novas propriedades farmacológicas de constituintes, bem como aperfeiçoa metodologia de extração.

## REFERÊNCIAS

ALVES, Luís Filipe Feio. **Os organismos marinhos como fonte de compostos bioativos**, UFP, Portugal, 2014.

AMARAL, F. M. D.; BROADHURST, M.; CAIRNS, S. D.; SCHLENZ, E. **Skeletal morphometry of Millepora species occurring in Brazil, including a previously new species**. Proc. Biol. Soc. Wash, v. 115, n. 3, p. 681-695, 2002.

BORGES, Sawana Caroline de Aquino. **Análise da microbiota simbiote do zoantídeo Palythoa caribaeorum (Duchassaing e Michelotti, 1860) na Praia de Porto de Galinhas PE**, Recife, 2014.

Brasileiros Rede de Pesquisa Coral Vivo. Rio de Janeiro: Museu Nacional, UFRJ, 111-128, 2016.

BARROS, E. et al. **Antimicrobianos: consulta rápida**. 4ª. Porto Alegre: Artmed, 2008. 592

CASTRO, Clovis Barreiro; ZILBERBERG, Carla. **Recifes brasileiros, sua importância e conservação**. Série Livros Museu Nacional, Conhecendo os Recifes Brasileiros Rede de Pesquisa Coral Vivo. Rio de Janeiro: Museu Nacional, UFRJ, 17-26, 2016.

CHAVES, Douglas Siqueira de Almeida; COSTA, Sônia Soares; ALMEIDA, Ana Paula; FRATTANI, Flávia; ASSAFIM Mariane; ZINGAL, Russolina Benedeta. **Metabólitos secundários de origem vegetal: uma fonte potencial de fármacos antitrombóticos**. Química Nova, Vol. 33, No. 1, 172-180, 2010.

CORREIA C.R.D., COSTA P.R.R., FERREIRA V.F. 2002. **Vinte e cinco anos de reações, estratégias e metodologias em química orgânica**. Quim Nova 25: 82-89.

DIGNANI, M. C.; ANAISSIE, E. **Human fusariosis**. Clin Microbiol Infect, v. 10 Suppl 1, p. 67-75, Mar 2004. ISSN 1198-743

Glaser, K. B. e Mayer, A. M. S. (2009). **A renaissance in marine pharmacology: From preclinical curiosity to clinical reality**. Biochemical Pharmacology, 78, pp. 440-448.

GRESSLER, Vanessa. **Composição química e potencial biológico das algas vermelhas marinhas Laurencia filiformis, Laurencia intricata, Plocamium brasiliense e Ochtodes secundiramea da costa brasileira**. São Paulo, 2010.

Haefner, B. **Drugs from the deep: marine natural products as drug candidates.** Drug Discovery Today, 8, pp. 536-544, 2003.

ICMBio - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, órgão ambiental do governo brasileiro, criado pela lei 11.516, de 28 de agosto de 2007

KURAMOTO M, HAYASHI K, YAMAGUCHI K, Yada M, TSUJI T, UEMURA D 1998. **Structure-activity relationship of norzoanthamine exhibiting significant inhibition of osteoporosis.** Bull Chem Soc Jpn 71: 771-779.

LIPSITCHI, M.; BERGSTROM, C. T.; LEVIN, B. R. **The epidemiology of antibiotic resistance in hospitals: paradoxes and prescriptions.** Proc Natl Acad Sci USA, v. 97, n. 4, p. 1938-43.

MAYER, A. M., et al. (2013). **Marine pharmacology in 2009-2011: marine compounds with antibacterial, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action.** Mar Drugs, 11, pp. 2510-2573.

MAYER, A. M. S., et al. (2010). **The odyssey of marine pharmaceuticals: a current pipeline perspective.** Trends in Pharmacological Sciences, 31, pp. 255-265.

MANDIGAN, M. T. et al. **Microbiologia De Brock.** Porto Alegre: Artmed, 2010.

MALUCHE, M. E.; SANTOS., J. I., **Candida sp. e infecções hospitalares: aspectos epidemiológicos e laboratoriais.** RBAC, v. 40, n. 1, p. 65-67, 2008.

OLIVEIRA, Alana Priscila Lima; CORREIA, Monica Dorigo. **Aula de campo como mecanismo facilitador do ensino-aprendizagem sobre os ecossistemas recifais em Alagoas;** ALEXANDRIA, Revista de educação em ciências e tecnologia, v.6, n.2, p. 163-190, junho 2013.

O'NEILL, E. et al. **Combined audit of hospital antibiotic use and a prevalence survey of healthcare-associated infection.** Clin Microbiol Infect, v. 16, n. 5, p. 513-5, May 2010. ISSN 1469-0691 (Electronic)

PIRES, Débora de Oliveira; CASTRO, Clovis Barreira; SEGAL, Bárbara; PEREIRA, Cristiano Macedo; CARMO, Edinilson Conceição; SILVA, Romário Guedes; CALDERON, Emiliano Nicolas. **Reprodução de corais de águas rasas do Brasil.** Série Livros Museu Nacional, Conhecendo os Recifes.

SEOANE, José Carlos Sícoli; BARBOSA, Cátia Fernandes. **Recifes de coral ao longo do tempo geológico.** Série Livros Museu Nacional, Conhecendo os Recifes Brasileiros Rede de Pesquisa Coral Vivo. Rio de Janeiro: Museu Nacional, UFRJ, 27-54, 2016

RODRIGUES, Inna Glibka. **Compostos de origem marinha com ação anti-inflamatória**, 2015.

ROJAS, A.; TORRES, M.; ROJAS, J. I.; FERREGRINO, A., COTERA, E. P. H. **Calcium-dependent smooth muscle excitatory effect elicited by the venom of the hydrocoral *Millepora complanata***. *Toxicon*, v. 40, p. 777-785, 2002.

RINEHART K.L., SHAW P.D., SHIELD L.S., GLOER J.B., HARBOUR G.C., KOKER M.E.S., SAMAIN D., SCHWARTZ R.E., TYMIAK A.A., WELLER D.L., CARTER G.T., MUNRO M.H., HUGHES R.G., RENIS H.E., SWYNENBERG E.B., STRINGFELLOW D.A., VAVRA J.J., COATS J.H., ZURENKO G.E., KUENTZEL S.L., LI L.H., BAKUS G.J., BRUSCA R.C., CRAFT L.L., YONG D.N., CONNER J.L. 1981. **Marine natural products as sources of antiviral, antimicrobial and antineoplastic agents**. *Pure Appl Chem* 53: 795-817.

SOARES, Marcelo de Oliveira; RABELO, Emanuelle Fontenele. **Primeiro registro de branqueamento de corais no litoral do Ceará (ne, brasil): indicador das mudanças climáticas?** São Paulo, UNESP, *Geociências*, v. 33, n. 1, p.1-10, 2014

SANTOS, Rudã Fernandes Brandão. **Novas tecnologias e perspectivas no cultivo de corais: uma alternativa para a recuperação ambiental, turismo, aquicultura e a obtenção de moléculas bioativas**. Recife, 2019.

SOARES, Carolina L.S.; PÉREZ, Carlos D.; MAIA, Maria B.S.; SILVA, Rejane S.; MELO, Liany F.A. **Avaliação da atividade anti-inflamatória e analgésica do extrato bruto *hidroalcoólico* do zoantídeo *Palythoa caribaeorum***, 2006.

SEKIROV, I. et al. **Gut microbiota in health and disease**. *Physiol Rev*, v. 90, n. 3, p. 859-904, Jul 2010. ISSN 1522-1210.

TORRES, Daniel Rovira Pereira. **Influência do turismo na comunidade de corais em recifes do nordeste brasileiro**. Natal/RN, 2016.

TODAR, K. The Normal Bacterial Flora of Humans. **Online Textbook of bacteriology**. Madison, Wisconsin 2008-2012.

WASSENAAR, T. M. **Bacteria: More Than Pathogens**. 2012.

VENKATESWARLU Y., REDDY N. S., RAMESH P, REDDY PS, JAMIL K 1998. **Chemical reduction of zoanthamine and evaluation of antibacterial activity**. *Heterocycl Commun* 4: 575-580.

VANDE PUTTE, P.; FERRARI, S.; COSTE, A. T. **Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections**. *Int J Microbil*, v. 2012, p. 713687, 2012. ISSN 1687-9198.

VINOTHKUMAR, S. e PARAMESWARAN, P. S. (2013). **Recent advances in marine drug research**. *Biotechnol Adv*, 31, pp. 1826-1845.