

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIAS**

Fernando Bueno Ferreira Fonseca de Fraga

**Compostos com atividade
antibiofilme em ovos
de artrópodes**

UFCSPA

**Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre**

Porto Alegre

2018

Fernando Bueno Ferreira Fonseca de Fraga

Compostos com atividade antibiofilme em ovos de artrópodes

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Biociências da
Fundação Universidade Federal de
Ciências da Saúde de Porto Alegre
como requisito para a obtenção do grau
de Mestre

Orientador(a): Dr^a. Adriana Seixas
Coorientador(a): Dr^a. Karine Rigon Zimmer

**Porto Alegre
2018**

Catálogo na Publicação

de Fraga, Fernando Bueno Ferreira Fonseca
Compostos com atividade antibiofilme em ovos de
artrópodes / Fernando Bueno Ferreira Fonseca de Fraga.
-- 2018.
70 p. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de
Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de
Pós-Graduação em Biociências, 2018.

Orientador(a): Adriana Seixas ; coorientador(a):
Karine Rigon Zimmer.

1. biofilmes. 2. antibiofilme. 3. ovos de artrópodes.
4. Anagasta kuehniella . 5. Lepidóptera. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados
fornecidos pelo(a) autor(a).

INSTITUIÇÕES E FONTES FINANCIADORAS

Este trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) e no Centro de Biotecnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), sendo financiado pelos seguintes órgãos de fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC) e Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a minha família e aos meus pais, Maria da Graça e Luiz Fernando, por me mostrarem desde muito cedo que o caminho dos estudos é uma jornada fascinante e transformadora, da vida e das suas oportunidades.

Agradeço a minha orientadora neste trabalho, professora Adriana Seixas, por ter me dado esta oportunidade mesmo sabendo das dificuldades que poderíamos encontrar pelo caminho. A sua disposição em participar ativamente da parte experimental me possibilitou aprender de perto técnicas novas e certamente contribuiu muito para a minha formação.

Agradeço também à professora Karine Rigon Zimmer, minha co-orientadora neste estudo, por sua atenção e cuidado com os detalhes deste trabalho e por despertar meu interesse neste tema instigante que é a relação entre os artrópodes e a microbiologia.

Agradeço ao professor Pedro Alves d'Azevedo pela disposição em assumir as tarefas de membro da banca de acompanhamento, relator final, parecerista científico e membro da banca de avaliação junto ao meu mestrado.

Agradeço ao professor Alexandre José Macedo pela atuação como membro da banca de acompanhamento, membro da banca de avaliação e também por despertar meu interesse pelo mundo das comunidades microbianas.

Agradeço à professora Tiana Tasca por aceitar o convite para participar como membro da banca de avaliação. Estou certo de que sua contribuição qualificará o trabalho.

Gostaria de agradecer também aos colegas dos laboratórios 201, 202, 302 da UFCSPA e 217N do Cbiot/UFRGS pela parceria e momentos compartilhados ao longo destes 2 anos.

Sou especialmente grato aos meus amigos, colegas e parceiros Bruna, Gustavo e Beto, por terem me acolhido em Criciúma e compartilhar muitos momentos alegres nas empreitadas da vida. Vocês me fazem acreditar que eu tenho feito as escolhas certas!!!

Obrigado!

SUMÁRIO

ABREVIATURAS.....	7
LISTA DE FIGURAS.....	8
RESUMO	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUÇÃO	10
1.1 Compostos antimicrobianos proteicos identificados em artrópodes.....	10
1.2 Peptídeos e proteínas antimicrobianas relacionados a aracnídeos.....	12
1.2.1 Escorpiões	12
1.2.2 Aranhas.....	12
1.2.3 Carrapatos	13
1.3 Peptídeos e proteínas antimicrobianos relacionados a insetos.....	13
1.4 Compostos antimicrobianos identificados em ovos de artrópodes	16
1.5 A mariposa <i>Anagasta (Ephesia) kuehniella</i> (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae)	17
1.6 <i>Staphylococcus</i> spp	19
1.7 Desafios no combate aos biofilmes microbianos.....	20
2. OBJETIVOS:	28
2.1 Objetivo geral:.....	28
2.2 Objetivos específicos:.....	28
3. RESULTADOS:	29
3.1 Artigo Científico:.....	30
4. CONCLUSÕES.....	57
5.PERSPECTIVAS	58
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:	59
7. ANEXOS	66

ABREVIATURAS

EPS: substância polimérica extracelular

PAMs: peptídeos/proteínas antimicrobianos

MRSA: *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina

MRSE: *Staphylococcus epidermidis* resistentes à metilina

VTDC: cisteína endopeptidase degradadora de vitelina

QS: *Quorum Sensing*

AHLs: acil homoserina lactonas

PAI: peptídeos auto-indutores

c-di-GMP: monofosfato de guanosina dimérico cíclico

DGC: diguanilato ciclasas

GTP: guanosina trifosfato

PDE: fosfodiesterases específicas

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: classes estruturais de AMPs,

Figura 2: relação hipotética da produção de AMPs com a filogenia de Pterygota

Figura 3: ciclo de vida de *Anagasta kuehniella* (Zeller 1879)

Figura 4: quatro estratégias de combate aos biofilmes

Figura 5: síntese e degradação de c-di-GMP

Figura 6: exemplos de moléculas envolvidas no sistema *Quorum-Sensing*

RESUMO

Uma característica importante de bactérias patogênicas é a sua capacidade de formar biofilmes, os quais apresentam grande recalcitrância à terapia antimicrobiana convencional e às defesas do hospedeiro. O surgimento acelerado e crescente de bactérias resistentes a múltiplos antimicrobianos se tornou um grave problema de saúde pública e vem impulsionando a busca por novos antimicrobianos. Os artrópodes, com sua grande diversidade de espécies, têm se mostrado uma importante fonte de novas moléculas com atividade biológica. Entretanto, a descrição de compostos com atividade antimicrobiana provenientes de ovos de artrópodes é escassa. Partindo da hipótese que os artrópodes apresentam mecanismos de proteção contra patógenos microbianos tanto no estágio adulto, como em estágios imaturos, este estudo investigou a presença de compostos com atividade antimicrobiana e antibiofilme em ovos de artrópodes. Para tanto, foram preparados extratos orgânico e aquoso a partir de ovos de *Anagasta kuehniella* e seu efeito sobre biofilmes bacterianos foi avaliado pelo método do cristal violeta. Os resultados obtidos demonstraram que o extrato aquoso foi capaz de inibir a formação de biofilme por *Staphylococcus epidermidis* sem inibir o crescimento. Ensaio utilizando tratamentos térmico e enzimático indicaram que a atividade antibiofilme estava relacionada a compostos proteicos presentes no extrato o qual foi posteriormente submetido a cromatografia de exclusão molecular da qual foi obtida uma fração parcialmente purificada com atividade antibiofilme enriquecida. O extrato e a fração tiveram seu perfil de proteínas analisado por SDS-PAGE e sua atividade antibiofilme avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Após tratamento com o extrato e/ou fração foi possível observar uma inibição da formação de biofilme por *S. epidermidis* de aproximadamente 65% e também a redução da presença de substância polimérica extracelular, sem alterações morfológicas aparentes nas células bacterianas. Nossos resultados sugerem que proteínas presentes nos ovos de *A. kuehniella* são capazes de inibir a formação de biofilmes bacterianos e reforça o potencial dos artrópodes como fontes de produtos naturais aplicados à biotecnologia.

Palavras-Chave: Biofilmes; antibiofilme; ovos de artrópodes; *Anagasta kuehniella*.

ABSTRACT

An important feature of pathogenic bacteria is their ability to form biofilms, which are highly recalcitrant to conventional antimicrobial therapy and host defenses. The huge emergence of bacteria resistant to multiple antibiotics has become a serious public health problem and drives the constant search for new compounds with antimicrobial activity. Arthropods are the largest animal group in the planet and have been shown to be an important source of new molecules with biological activity. However, the description of compounds with antimicrobial activity from arthropod eggs is scarce. Based on the hypothesis that arthropods present defense mechanisms against microbial pathogens both in the adult stage and in the immature stages, this study investigated the presence of compounds with antimicrobial and antibiofilm activity in arthropod eggs. Organic and aqueous extractions were performed with *Anagasta kuehniella* eggs and the effects on bacterial biofilms were evaluated by the crystal violet method. Our results showed that the aqueous extract was able to inhibit biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* in up to 65% without inhibiting bacterial cell growth. Thermal and enzymatic treatments indicated that the antibiofilm activity was related to protein compounds present in the egg extract. The extract was applied to a size exclusion chromatography and a partially purified fraction with enriched antibiofilm activity was obtained. The extract and partially purified fraction had their protein profile analyzed by SDS-PAGE and the antibiofilm activity evaluated by scanning electron microscopy (SEM). It was possible to observe that bacterial aggregates and the presence of the extracellular polymer substance was reduced in *S. epidermidis* biofilms without affect apparently bacterial cells morphology. Our results suggest that proteins present in *A. kuehniella* eggs are able to inhibit the formation of bacterial biofilms and reinforce the potential of arthropods as sources of natural products applied to biotechnology.

Keywords: Biofilm; antibiofilm; arthropods eggs; *Anagasta kuehniella*

1. INTRODUÇÃO

Os artrópodes têm sido reportados como uma importante fonte de novas moléculas bioativas incluindo moléculas com atividade antimicrobiana. Compostos proteicos com atividade antimicrobiana já foram descritos a partir da hemolinfa (EHRET-SABATIER et al., 1996), de venenos secretados (GAO et al., 2005), de metabólitos produzidos por bactérias associadas a artrópodes (RAMADHAR et al., 2014) e, mais raramente, dos ovos dos artrópodes (LEI et al., 2015). Arthropoda é um filo muito diverso e com muitos representantes que possuem ciclos de vida bastante particulares. Cada grupo apresenta características singulares e uma variedade de hábitos que podem ser muito distintos, como por exemplo, a ocupação de ambientes terrestres e marinhos (AKAM, 2000; REGIER et al., 2010). Aqui serão abordados compostos com propriedades antimicrobianas identificados a partir de artrópodes pertencentes às classes Aracnida e Insecta.

1.1 Compostos antimicrobianos proteicos identificados em artrópodes

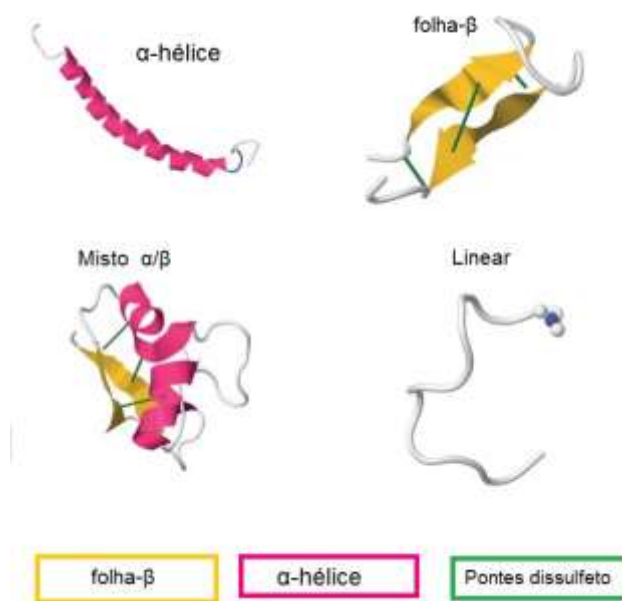
Os artrópodes apresentam diversas estratégias para combater patógenos que consigam atravessar suas barreiras físicas primárias (como exoesqueleto/cutícula) e acessar seus tecidos internos. A resposta imune pode ser do tipo celular (que inclui processos como fagocitose, encapsulação, melanização, nodulação e coagulação) ou do tipo humoral na qual as proteínas e peptídeos antimicrobianos (PAMs) são efetores chave do combate aos invasores (ROWLEY; POWELL, 2007; BAXTER; CONTET; KRUEGER, 2017). Os PAMs geralmente são constituídos por sequências curtas de aminoácidos e atuam na resposta humoral, sendo produzidos por uma variedade de organismos, desde bactérias a vertebrados (BROGDEN, 2005; BAHAR; REN, 2013). Os PAMs encontrados em artrópodes são extremamente diversos e são classificados com base na sequência primária e nas suas características estruturais. Embora haja variações dependendo da fonte consultada, geralmente são classificados em 4 grandes grupos em relação a sua composição (BULET; STÖCKLIN, 2005; YI et al., 2014):

- Peptídeos com estrutura em alfa-hélice sem resíduos de cisteína, como as cecropinas;

- Peptídeos ricos em resíduos de prolina, como as lebecinas;
- Peptídeos ricos em resíduos de glicina, como as attacinas;
- Peptídeos ricos em cisteína e com pontes dissulfeto, como as defensinas.

Embora seja recorrente a presença de poucos resíduos de aminoácidos, os peptídeos antimicrobianos apresentam estruturas variadas que seguem os mesmos padrões estruturais encontrados em outros organismos (YI et al., 2014). De modo geral, os PAM apresentam uma das quatro classes estruturais: peptídeos helicoidais com α -hélice, peptídeos com folhas- β , peptídeos mistos α - β e estruturas lineares (**Figura 1**) (HUERTA-CANTILLO; NAVARRO-GARCÍA, 2016).

Figura 1.



Classes estruturais de AMPs, adaptado de Huerta-Cantillo; Navarro-García (2016)

A seguir, serão discutidos compostos proteicos com atividade antimicrobiana em aracnídeos.

1.2 Peptídeos e proteínas antimicrobianas relacionados a aracnídeos

Os aracnídeos (Aracnida, Arthropoda) são um grupo de artrópodes que inclui mais de 60.000 espécies descritas, entre as quais encontram-se organismos de comprovada importância médica e econômica (CORDEIRO et al., 2015).

1.2.1 Escorpiões

O estudo da biologia e bioquímica desses organismos tem ressaltado seu potencial como fonte de novas moléculas com atividades antimicrobianas, assim como demonstrado por Ehret-Sabatier et al.(1996) que identificaram três diferentes peptídeos antimicrobianos (PAMs) extraídos do escorpião *Androctonus australis*. Dos três peptídeos extraídos da hemolinfa desses escorpiões, dois eram inéditos e foram nomeados como androctonina (com atividade sobre bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos) e como buthinina (ativa contra bactérias gram-positivas e gram-negativas). O terceiro PAM era uma defensina já encontrada em outros invertebrados (EHRET-SABATIER et al., 1996).

Novos peptídeos com atividades contra *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA), denominados imcroporina (ZHAO et al., 2009) e ctriporina (FAN et al., 2011), foram obtidos do veneno de *Isometrus maculatus* e *Chaerilus tricostatus*, respectivamente. Recentemente Bao et al.(2015) descreveram a opisina, um peptídeo isolado de *Opisthophthalmus glabrifrons* capaz de inibir o crescimento de bactérias gram-positivas incluindo MRSA. Outros dois novos peptídeos obtidos do veneno do escorpião mexicano *Vaejovis punctatus* foram capazes de inibir o crescimento de diversos patógenos, como *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, os fungos *Candida albicans* e *Candida glabrata* e ainda dois isolados clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* (RAMÍREZ-CARRETO et al., 2015).

1.2.2 Aranhas

Peptídeos/Proteínas antimicrobianos (PAMs) também têm sido obtidos a partir de diversas espécies de aranhas (GAO et al., 2005). Santos et al. (2009) isolaram e caracterizaram o LyeTx I, um potente peptídeo do veneno da aranha *Lycosa erythrognatha* que apresentou atividade antimicrobiana sobre as bactérias *E. coli* e *S. aureus* e sobre os

fungos *Candida krusei* e *Cryptococcus neoformans*. Recentemente Wang et al (2014) demonstraram que a lycosina – I, um PAM isolado do veneno de *Lycosa singoriensis*, possui efeito bactericida sobre isolados clínicos de *Acinetobacter baumannii* resistentes a múltiplas drogas (MDRAB).

1.2.3 Carrapatos

Os carrapatos compreendem um grupo que tem sido amplamente estudado devido à importância como vetores de doenças para saúde pública e animal. Pesquisas envolvendo a identificação de compostos com atividade antimicrobiana provenientes de carrapatos com importância econômica, como o *Rhipicephalus microplus*, têm se tornado cada vez mais frequentes na literatura (JOAZEIRO et al., 2012).

O composto esteróide *boophilina*, extraído de fêmeas de *R. microplus*, foi capaz de inibir o crescimento de *E. coli*, *Bacillus subtilis* e também dos fungos *Cladosporium cucumerinum* e *C. albicans* (POTTERAT et al., 1997). A microplusina, um PAM que apresenta atividade sobre bactérias gram-positivas e fungos filamentosos e leveduriformes também já foi descrita em *R. microplus* (FOGAÇA et al., 2004). Dos hemócitos deste carrapato foram extraídos um PAM do grupo das defensinas de invertebrados e a ixodidina, um PAM que inibe o crescimento de *Micrococcus luteus* (FOGAÇA et al., 2006). Recentemente foi descrita uma proteína presente no intestino e ovário de *R. microplus*, denominada de cisteína endopeptidase degradadora de vitelina (VTDCE), a qual apresentou atividade antibacteriana, não relacionada à atividade enzimática, inibindo o crescimento de *Staphylococcus epidermidis* (OLDIGES et al., 2012).

1.3 Peptídeos e proteínas antimicrobianos relacionados a insetos

Outro grupo de grande importância entre os artrópodes é o dos insetos (Insecta, Arthropoda). A hemolinfa dos insetos é uma grande fonte para obtenção de peptídeos antimicrobianos, os quais exibem atividades sobre bactérias e/ou fungos, assim como sobre parasitas e vírus (BULET; STÖCKLIN, 2005). Segundo Yi et al. (2014), diferentes grupos de PAMs já foram identificados em diversas ordens de insetos, conforme descrito abaixo:

- *Peptídeos com estrutura em alfa-hélice* como a cecropina (identificada em Lepidoptera, Diptera e Coleoptera) e a muricina (identificada apenas em Lepidoptera).

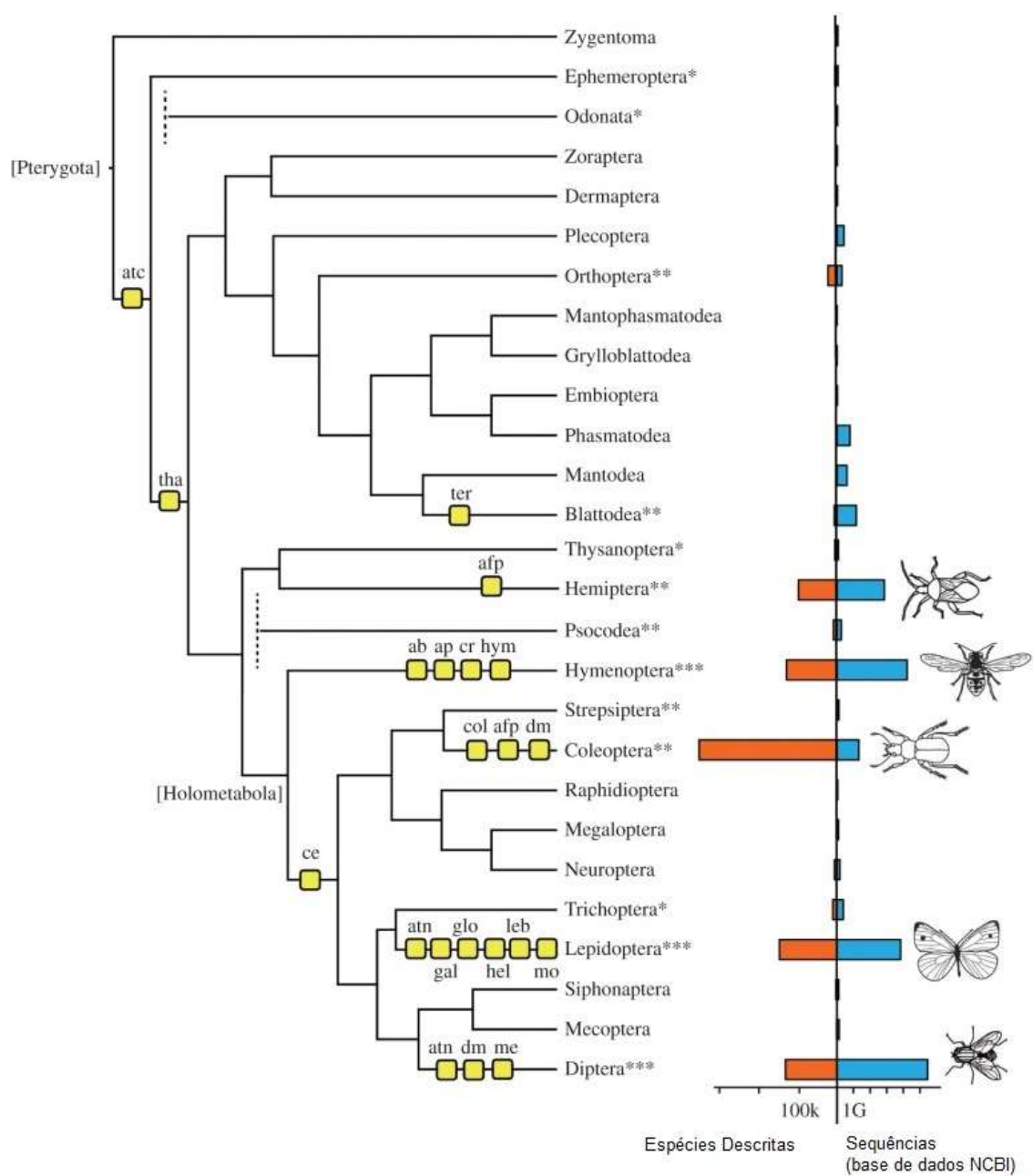
- *Peptídeos ricos em cisteína* como as defensinas (identificados em Diptera, Hymenoptera, Hemiptera, Coleoptera, Lepidoptera, e na ordem primitiva Odonata).

- *Peptídeos ricos em prolina* como as lebecinas e as apidaecinas (identificadas em Lepidoptera e Hymenoptera, respectivamente), entre outros.

- *Peptídeos ricos em glicina* como as attacinas (identificadas em Diptera e Lepidoptera) e as gloverinas (identificada apenas em Lepidoptera).

Esses peptídeos são produzidos na presença de elicitores ambientais e por isso sua ocorrência entre diferentes ordens é variável (ROLFF & SCHMID-HEMPEL, 2016). Segundo Mylonakis et al., (2016) a variação dos PAMs entre os grupos de insetos sofre influência das suas interações ecológicas e evolutivas com simbioses e patógenos. De acordo com este autor, alguns PAMs, como as defensinas, são amplamente distribuídos entre os insetos, enquanto outros, como as gloverinas, são encontrados em apenas uma ordem. A figura a seguir (**Figura 2**) demonstra a complexa relação entre a produção de difentes AMPs e as histórias evolutivas de algumas ordens de insetos:

Figura 2.



Abbreviations: ab, abaecin; afp, antifungal protein; ap, apidaecin; atc, attacin C-terminal domain; atn, attacin N-terminal domain; ce, cecropin; col, coleopteracin; cr, crustin; dm, drosomycin; gal, gallerimycin; glo, gloverin; hel, heliomicin; hym, hymenoptaecin; leb, lebocin; mor, moricina; ter, termicina; tha, tahumatin

Relação hipotética da produção de PAMs com a filogenia de Pterygota, adaptado de Mylonakis et al. (2016)

Além dos compostos identificados na hemolinfa, os insetos produzem e secretam uma série de substâncias envolvidas na sua defesa. Ayasse & Paxton (2008), citam a presença de substâncias antimicrobianas identificadas sobre o corpo e também nos ninhos de diversas espécies de insetos sociais das ordens Hymenoptera e Isoptera envolvidas na proteção das colônias contra bactérias e fungos.

1.4 Compostos antimicrobianos identificados em ovos de artrópodes

Apesar dos inúmeros estudos sobre a produção de compostos antimicrobianos envolvidos na defesa de artrópodes na fase adulta e larval, estudos de PAMs em ovos de artrópodes, envolvidos na defesa das fases imaturas desses organismos, são escassos (ZIMMER et al., 2013^b). PAMs nomeados de ceratotoxinas já foram descritos nos ovos da mosca *Ceratitis capitata* e parecem estar envolvidos na defesa de ovos e larvas no ambiente, uma vez que inibem o crescimento de bactérias gram-positivas e gram-negativas (MARCHINI et al., 1997). Em moscas do gênero *Drosophila* sp., o peptídeo cecropina A1, amplamente relacionado a defesa inata dos indivíduos na fase adulta, está presente também nos ovos desses organismos, o que sugere sua participação na proteção dos embriões das moscas (ÖNFELT et al., 2001). Já nos ovos da mariposa *Manduca sexta* foi observado um aumento da expressão de seis genes de proteínas antimicrobianas quando os mesmos foram infectados com a bactéria *Serratia marcescens* (GORMAN et al., 2004).

Recentemente, Jacobs et al. (2013) descreveram a importância da serosa, uma camada externa presente nos ovos de alguns grupos de insetos, na proteção contra a dessecação e sobrevivência da prole. Ovos de besouros *Tribolium castaneum* que tiveram a serosa removida apresentaram proliferação duas vezes mais rápida das bactérias *E. coli* e *M. luteus* após infecção induzida, sugerindo forte influência da serosa nas defesas inatas (JACOBS; SPAINK; ZEE, 2014). Knorr et al. (2015) mostraram que a transferência de bactérias do trato reprodutivo de fêmeas de *Tribolium castaneum* para os ovos destes besouros possui forte influência na expressão de genes para produção de substâncias antimicrobianas envolvidas na reposta imune da prole.

Estudos envolvendo PAMs associados aos ovos de carrapatos também têm sido descritos na literatura. Extratos obtidos a partir da cera de ovos do carrapato *Amblyomma hebraeum* mostraram-se efetivos contra as bactérias gram-positivas *S. epidermidis*, *Bacillus subtilis* e *M. luteus*. Os autores sugeriram que essa atividade antimicrobiana é uma adaptação para proteção dos ovos contra as bactérias presentes no solo (ARRIETA et al., 2006). Esteves et al. (2009) descreveram atividade antimicrobiana do homogeneizado total e na superfície dos ovos do carrapato *R. microplus*. O PAM responsável pela atividade foi identificado como a microplusina (ESTEVES et al., 2009). Propriedades antivirais também foram demonstradas a partir do extrato obtido da cera dos ovos do carrapato *Amblyomma cajennense* (LIMA-NETTO et al., 2012).

Recentemente foi descrita a atividade antibacteriana de compostos proteicos obtidos do extrato aquoso dos ovos da aranha *Latrodectus tredecimguttatus*. O PAM nomeado latroeggtxin-IV apresentou atividade contra bactérias gram-positivas e gram-negativas (LEI et al., 2015).

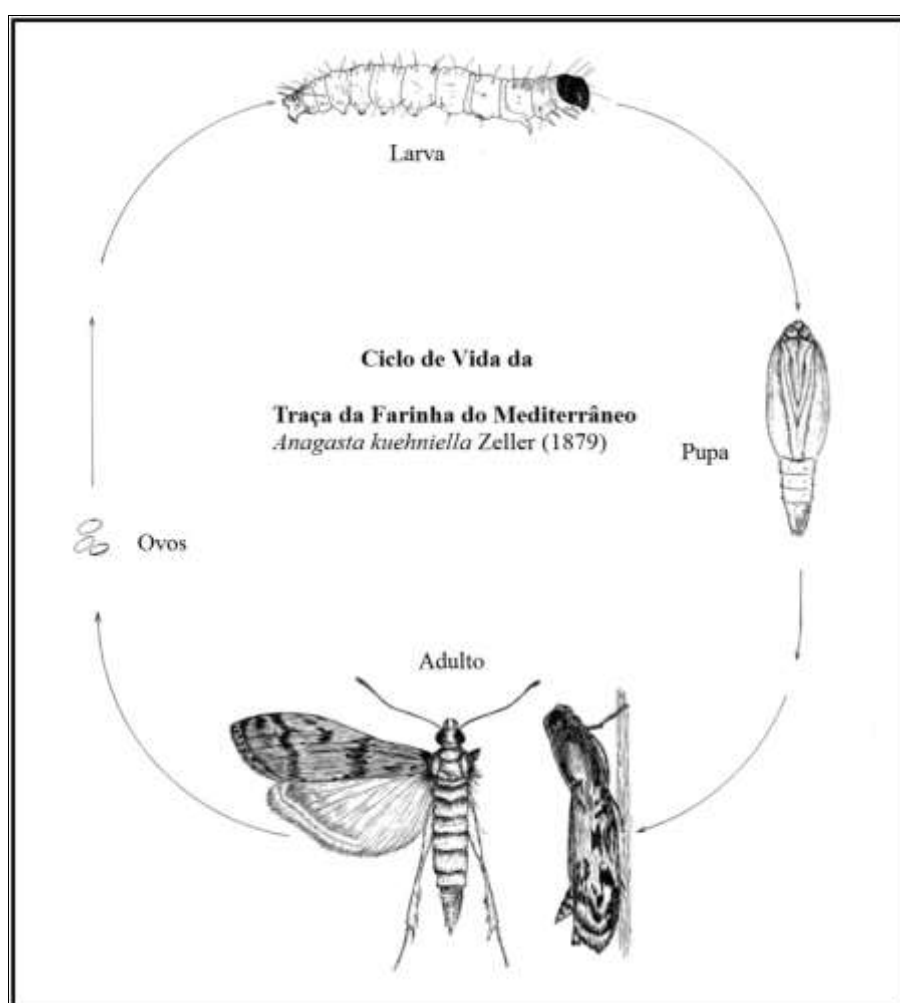
A presença de moléculas com atividade contra biofilmes bacterianos em ovos de artrópodes é rara e foi descrita pela primeira vez por Zimmer et al. (2013^a, 2013^b) que demonstrou a atividade antibiofilme e antimicrobiana da *boophilina*, um colesterol sulfatado isolado a partir da cera dos ovos do carrapato *R. microplus* contra *P. aeruginosa* e *S. epidermidis*, respectivamente.

1.5 A mariposa *Anagasta (Ephestia) kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae)

Anagasta kuehniella é uma mariposa da família Pyralidae que apresenta distribuição cosmopolita e está relacionada a danos em produtos alimentícios armazenados. No Brasil, o nome comum atribuído ao inseto é traça da farinha o qual se refere ao dano causado pelo estágio larval que se desenvolve sobre farinhas e grãos armazenados trazendo prejuízo aos produtores (LORINI; SCHNEIDER, 1994; OLIVEIRA et al., 2017). O ciclo de vida é holometábolo e envolve as fases de ovo, larva, pupa e adulto (**Figura 3**). Os insetos adultos apresentam coloração acinzentada, cerca de 20 mm de envergadura e manchas transversais escuras nas asas anteriores. A fêmea coloca em média 200 a 300

ovos dependendo das condições ambientais, as lagartas medem cerca de 15 mm e tecem um casulo onde empupam. O ciclo de vida completo dura cerca de 40 dias (LORINI et al., 2015). Atualmente o controle desta mariposa é eficiente e ela causa danos menores comparado a outras traças de grãos armazenados (SMALL, 2007).

Figura 3.



Ciclo de vida de *A. kuehniella* (Zeller 1879), adaptado de Departamento de Agricultura dos Estados Unidos.

Este inseto tem sido muito estudado nos últimos anos na área de manejo de pragas utilizando controle biológico. Nessa abordagem, inimigos naturais capazes de competir ou parasitar insetos-praga são criados em laboratório e depois liberados no campo para realizar o controle biológico (KAPRANAS; TENA, 2015). *Anagasta kuehniella* é utilizada

como hospedeiro alternativo neste processo, pois seus ovos são oferecidos como substrato para que os insetos parasitas se reproduzam em laboratório (PRATISSOLI et al., 2010; BORZOU; NASERI; MOHAMMADZADEH-BIDARANI, 2016;). Tendo em vista a demanda de produtores agrícolas e pesquisadores interessados em aplicar este organismo como hospedeiro alternativo, empresas de biotecnologia no Brasil e no exterior fazem a comercialização dos ovos desse inseto.

1.6 *Staphylococcus spp*

O gênero *Staphylococcus* é constituído por cocos gram-positivos, não formadores de esporos, aeróbicos facultativos e que constituem a microbiota da pele e das mucosas de seres humanos e outros mamíferos. Atualmente esse gênero conta com cerca de 40 espécies entre as quais *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus saprophyticus* são reconhecidamente associados a infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) (KLOOS; MUSSELWHITE, 1975; NAMVAR et al., 2014; ZHENG et al., 2018).

Staphylococcus epidermidis foi considerado por muito tempo como um micro-organismo inócuo comensal que vive sobre a pele dos seres humanos. Todavia, devido à emergência de casos clínicos envolvendo infecções causadas por *S. epidermidis* nas últimas décadas, esta bactéria passou a ser considerada um importante patógeno oportunista de seres humanos (OTTO, 2009; NAMVAR et al., 2014). *Staphylococcus epidermidis* pertence ao grupo de estafilococos coagulase-negativos e é a espécie isolada com mais frequência do tecido epitelial humano, colonizando prioritariamente a região das axilas, cabeça e narinas (KLOOS; MUSSELWHITE, 1975; YOUNGE et al., 2018). Um problema relevante associado às IRAS envolvendo essas bactérias é a sua capacidade de se aderir e, assim, colonizar as superfícies de dispositivos comumente utilizados na clínica médica, como cateteres intravenosos, próteses, válvulas cardíacas entre outros causando sérias complicações clínicas e prejuízos financeiros (ROGERS; FEY; RUPP, 2009; BÜTTNER, MACK, ROHDE, 2015).

Considerando somente as infecções por estafilococos coagulase-negativos na corrente sanguínea relacionados ao uso de cateteres intravasculares, o número estimado de

casos chega a 250.000 por ano nos Estados Unidos, com uma taxa de mortalidade de 1-25%. O custo estimado de cada episódio é de 25.000 dólares e o tempo de permanência hospitalar aumenta em mais de sete dias, o que demonstra o impacto significativo dos custos com estas infecções na área da saúde (OTTO, 2012). Outro fator que aumenta os custos das infecções causadas por estafilococos coagulase-negativos é sua ocorrência em dispositivos como válvulas cardíacas ou próteses ortopédicas. Nestes casos o tratamento requer o uso prolongado de antimicrobianos e, muitas vezes, um novo procedimento operatório para retirada ou substituição dos dispositivos é necessário. (BÜTTNER, MACK, ROHDE, 2015, ZHENG et al., 2018).

Neste estudo foi utilizada a cepa *S. epidermidis* RP62A (ATCC35984), a qual é proveniente de um surto de sepse associada a cateteres intravasculares em Mênfis (Tennessee). Esta cepa foi caracterizada com outros estafilococos coagulase-negativos nos anos 80 e apresenta resistência à meticilina (MRSE) (CHRISTENSEN et.al., 1983). Outra característica marcante desta cepa é a sua grande capacidade de produzir e secretar polissacarídeos, bem como sua capacidade de aderir a superfícies e formar biofilmes que já foi amplamente demonstrada (CHRISTENSEN et.al., 1990; WILLIAMS; BLOEBAUM, 2010).

1.7 Desafios no combate aos biofilmes microbianos

A rápida emergência de bactérias resistentes aos antimicrobianos disponíveis é um problema grave associado às infecções relacionadas à assistência à saúde e tem impulsionado a constante busca por novos compostos antimicrobianos (DEMAIN; SANCHEZ, 2009; AOKI; UEDA, 2013). Uma das estratégias desenvolvidas por bactérias que resulta em uma maior tolerância aos antimicrobianos é a formação de biofilmes. Os biofilmes são definidos como comunidades de micro-organismos aderidas de maneira irreversível a uma superfície biótica ou abiótica e envoltas por uma matriz de substâncias poliméricas (EPS) produzidas pela própria comunidade (COSTERTON et al., 1987; WORTHINGTON; RICHARDS; MELANDER, 2012). Atualmente se reconhece que a agregação das células em biofilmes é o modo de vida predominante entre micro-organismos e ocorre amplamente em ambientes naturais, industriais e hospitalares

(COSTERTON et al., 1995; FLEMMING et al., 2016). Desenvolver estratégias de controle destas comunidades microbianas na área médica é de suma importância, uma vez que diversos patógenos que se apresentam sob esse modo de vida possuem grande recalcitrância aos antimicrobianos convencionais e estão relacionados a diversas infecções, muitas vezes persistentes, em ambientes hospitalares e veterinários (SCHOENFELDER et al., 2010; BREIDENSTEIN; FUENTE-NUÑEZ; HANCOCK, 2011; ZHENG et al., 2018).

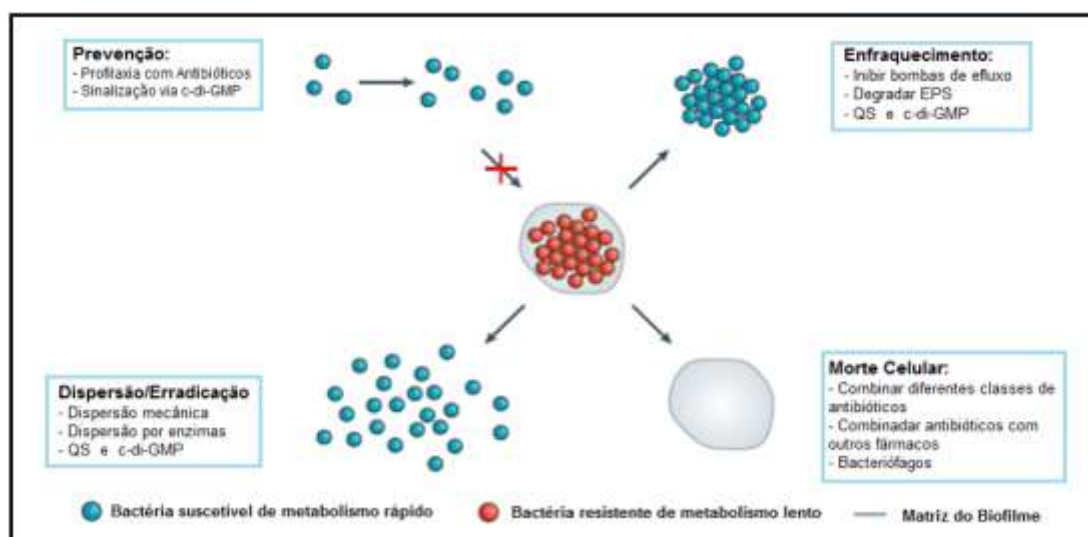
Os biofilmes bacterianos apresentam características singulares que contribuem para que este fenótipo possua uma tolerância maior aos antimicrobianos quando comparado a células bacterianas planctônicas. A persistência dos biofilmes aos antimicrobianos é multifatorial e envolve fatores físicos e fisiológicos específicos do biofilme além dos mecanismos de resistência convencionais encontrados nas células planctônicas. Bjarnsholt et al. (2013), citam três grandes grupos de fatores (ou mecanismos) que contribuem para essa persistência dos biofilmes:

- Os *fatores físicos* que estão relacionados a estrutura da matriz do biofilme, que além de dificultar a penetração e retardar a ação dos antimicrobianos, pode ainda conter agentes quelantes que dificultam sua ação;
- Os *fatores fisiológicos* que são relativos à atividade metabólica das células bacterianas no biofilme, onde ocorre a formação de um gradiente. Células de crescimento rápido encontram-se na superfície e células com metabolismo mais lento, devido à escassez de oxigênio, encontram-se na parte interna. A formação deste gradiente altera a resposta das células bacterianas a ação dos antimicrobianos em função da disponibilidade de oxigênio e da atividade metabólica reduzida.
- As *respostas adaptativas*, que são aquelas induzidas pela presença de agentes antimicrobianos e são similares às apresentadas pelas células planctônicas, tais como: modificação do sítio de ação, produção de enzimas que inativam o antimicrobiano e ativação de bombas de efluxo.

Um quarto fator que tem se mostrado muito importante na resistência dos biofilmes aos antimicrobianos é o ambiente favorável para a transferência horizontal de material genético (THG) entre as bactérias da comunidade (ALGBURI et al., 2017). Stalder e Top (2016) argumentam que embora se compreenda pouco a extensão alcançada pela THG ao longo de todo o biofilme, as subpopulações adjacentes de bactérias são pontos de intensa troca de plasmídeos contendo genes de resistência, o que pode contribuir para o estabelecimento de biofilmes resistentes a múltiplos antimicrobianos.

Apesar dos distintos mecanismos de tolerância aos antimicrobianos apresentados pelos biofilmes bacterianos e dos desafios na busca por alternativas terapêuticas, diversas estratégias de controle e combate de biofilmes têm sido descritas na literatura (BJARNSHOLT et al., 2018). A compreensão de fatores estruturais e fisiológicos característicos dos biofilmes é fundamental para o desenvolvimento destas novas estratégias de controle, as quais segundo Bjarnsholt et al. (2013) podem ter os seguintes objetivos: (a) atuar prevenindo a formação do biofilme; (b) causar enfraquecimento das defesas do biofilme; (c) causar dispersão ou erradicação (d) causar morte celular (**Figura 4**).

Figura 4.

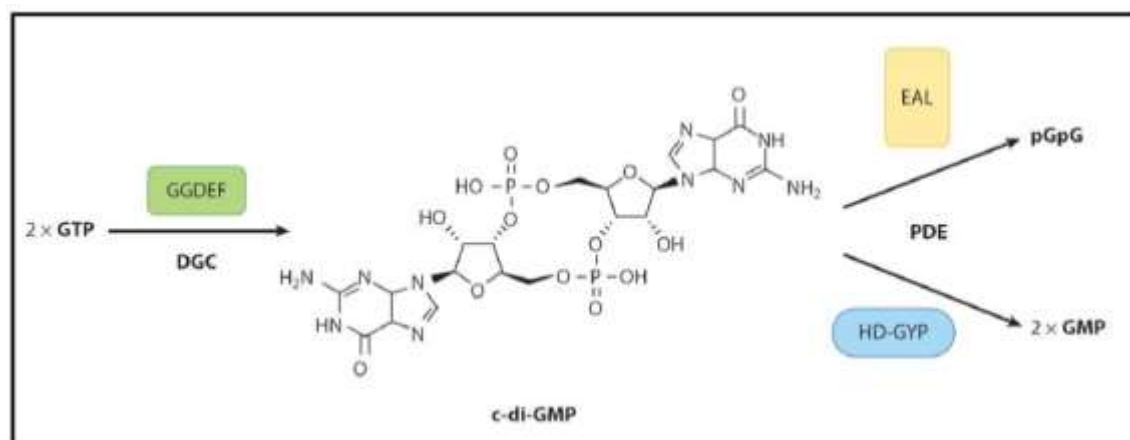


Quatro estratégias de combate aos biofilmes, adaptado de Bjarnsholt et al. (2013)

A adesão inicial das bactérias planctônicas a uma superfície para posterior formação do biofilme é uma etapa crucial que depende de muitos fatores extrínsecos, como presença de fluxo ou hidrofobicidade da superfície, e intrínsecos como expressão de proteínas de adesão e perda de flagelos pelas bactérias (FIEBIG et al., 2014; JOSSE; LAURENT; DIOT, 2017). Juntamente a esses, outro fator fundamental no estabelecimento dos biofilmes é a presença de sistemas de comunicação entre as células bacterianas, os quais envolvem diversos sinalizadores químicos que atuam na coordenação das ações na comunidade (ABISADO et al., 2018). Nesse sentido, estratégias que tem como objetivo a manipulação destes fatores podem ser eficazes na prevenção da formação de biofilmes.

Um dos alvos estratégicos nessas abordagens é o mecanismo de sinalização envolvendo o c-di-GMP (monofosfato de guanosina dimérico cíclico), pois estudos mostram que a quantidade intracelular deste sinalizador está envolvida na definição se as células bacterianas exibirão um modo de vida livre/planctônica ou sésil (RABIN et al., 2015). O c-di-GMP é um importante sinalizador intracelular em bactérias relacionado à formação e coordenação dos biofilmes, bem como na regulação da expressão de diversos fatores de virulência e sua biossíntese e degradação têm sido muito estudada (HENGGE, 2009). Ele é sintetizado por enzimas contendo o domínio GGDEF, denominadas diguanilato ciclases (DGC), a partir de duas moléculas de GTP e sua degradação é realizada por fosfodiesterases específicas (PDE) que contém domínios EAL ou HD-GYP (BOYD; O'TOOLE, 2012). Dessa forma, as enzimas DGC e PDE controlam a quantidade de c-di-GMP intracelular em bactérias (**Figura 5**)

Figura 5

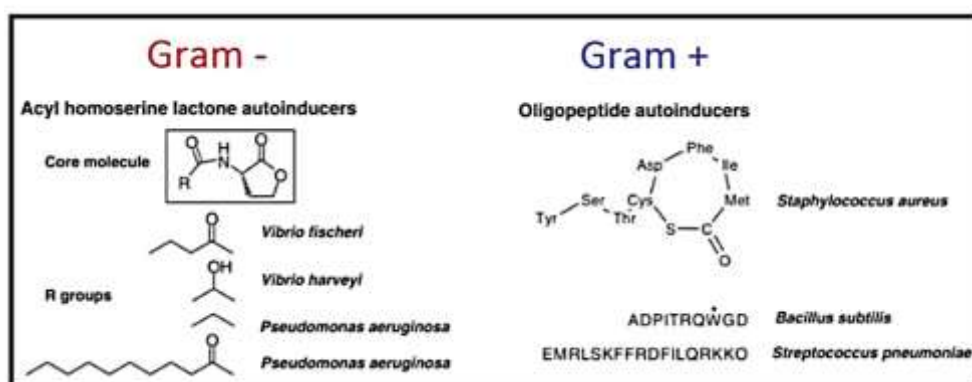


Síntese e degradação de c-di-GMP, adaptado de Boyd e O'toole (2012)

Outro sistema de comunicação química fundamental para a coordenação das ações coletivas nos biofilmes é denominado *quorum-sensing* (QS) (ABISADO et al., 2018). O sistema QS, no qual a comunicação célula-célula dentro do biofilme é realizada por moléculas auto-indutoras (**Figura 6**) como as acil homoserina lactonas (AHLs) em gram-negativas e os peptídeos auto-indutores (PAI) em gram-positivas, apresenta importante papel sobre a adesão, a formação e a expressão de fatores de virulência pelos biofilmes (BASSLER, 2002).

Por ser um sistema central na coordenação dos biofilmes, diversos estudos têm objetivado a procura por compostos similares ou antagonistas aos auto-indutores com a finalidade de interferir na comunicação celular bacteriana. Abraham (2016) descreve os avanços na descoberta e desenvolvimento de moléculas com a capacidade de alterar a comunicação bacteriana, como, por exemplo, os análogos ou bloqueadores das moléculas auto-indutoras no sistema QS.

Figura 6.



Algumas das moléculas do sistema QS, adaptado de Camilli; Bassler (2006)

As abordagens que visam combater os biofilmes em estágios mais avançados do desenvolvimento enfrentarão dificuldades adicionais relacionadas a própria estrutura física do biofilme. Uma característica marcante dos biofilmes é que as células nestes agregados bacterianos estão envoltas em uma matriz composta de polissacarídeos, proteínas e DNA extracelular secretados pela própria comunidade (FLEMMING; WINGENDER, 2010; FONG; YILDIZ, 2015). A matriz extracelular do biofilme forma uma barreira mecânica que dificulta o acesso dos compostos químicos às células e está diretamente implicada na recalcitrância ao tratamento com antimicrobianos convencionais (ALGBURI et al., 2017). Em vista disso, a matriz é um alvo interessante no combate aos biofilmes e tem se investigado intensamente compostos capazes de se ligar e desestabilizar os diferentes componentes da matriz (FLEMING; RUMBAUGH, 2017). Com relação às proteínas da matriz, estudos têm demonstrado o potencial da aplicação de proteases para interferir na estabilidade dos biofilmes, como por exemplo, as proteínas aureolisina, ScpA e SspB que foram capazes de dispersar o biofilme de *S. aureus* (LOUGHRAN et al., 2014). Os polissacarídeos são outro componente importante da matriz explorado como alvo para o controle microbiano. Enzimas capazes de interagir com estes componentes como as alginato liases e a dispersina B se mostraram efetivas no controle de biofilmes de *P. aeruginosa* e *S. epidermidis*, respectivamente (KAPLAN et al., 2004; GHADAM;

AKHLAGHI; ALI, 2017). O DNA extracelular também tem sido estudado como alvo de enzimas capazes de catalisar sua degradação e promover a dispersão dos biofilmes bacterianos. Enzimas como DNase I e a NucB têm se mostrado efetivas no controle da formação e também na erradicação de biofilmes formados por diversas bactérias gram-positivas e gram-negativas (OKSHEVSKY; REGINA; MEYER, 2015; BASLÉ et al., 2018; SHARMA; SINGH, 2018)

Além dos alvos estruturais e de comunicação intercelular, estratégias focadas na fisiologia celular têm sido desenvolvidas para controlar os biofilmes. Uma destas estratégias envolve a regulação da transcrição de genes e/ou modificação de proteínas por pequenas moléculas de RNA não codificantes (sRNA). Desde a descrição do importante papel da proteína CsrA (*carbon storage regulator*) na formação de biofilmes em *E. coli* (JACKSON et al., 2002) e da existência de diversos sRNAs (como CsrB, CsrC) que regulam sua atividade (BABITZKE; ROMEO, 2007), diversos novos sRNAs foram identificados e associados à regulação de componentes celulares importantes para a formação de biofilmes (CHAMBERS; SAUER, 2013). A regulação *in vitro* de biofilmes por sRNAs já foi descrita para diversos patógenos como *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *Vibrio cholerae* (WOLSKA et al., 2015). Uma outra abordagem que interfere na fisiologia e tem se mostrado efetiva sobre biofilmes bacterianos é a interferência sobre o metabolismo de metais como o ferro e zinco (MASTROPASQUA et al., 2018). Alterações na quantidade de ferro disponível e a aplicação de metais com propriedades similares ao ferro, que atuem como seus competidores (como o gálio), têm sido estudadas no combate a infecções relacionadas à *P. aeruginosa* que agravam o quadro clínico de pacientes portadores da fibrose cística (SMITH et al., 2012).

Embora as estratégias citadas acima tenham demonstrado grande potencial no controle de biofilmes, o tratamento de infecções associadas a biofilmes continua impondo muitos desafios, fazendo com que o uso de diferentes estratégias terapêuticas combinadas seja defendido como uma maneira eficiente para controlar essas infecções (ALGBURI et al., 2017; BJARNSHOLT et al., 2018). Nesse sentido, a combinação de novos compostos antimicrobianos junto com antibióticos convencionais para controlar a formação de

biofilmes vem sendo abordada e mostra-se como uma estratégia bastante promissora. Esta prática está de acordo com a abordagem recentemente adotada pelo Centro Nacional de Saúde Complementar e Integrativa (NCCIH) do Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos (NIH) que ressalta que combinar tratamentos convencionais com métodos complementares pode revelar a utilidade potencial e questões de segurança de produtos naturais (ALGBURI et al., 2017). Nesse contexto, tem se demonstrado que AMPs utilizados combinados com antibióticos convencionais podem ter sua eficiência aumentada ou recuperar o potencial biocida dos antimicrobianos disponíveis, como demonstrado na combinação do AMP G10KHc com tobramicina que foi capaz de aumentar o efeito antimicrobiano sobre *P. aeruginosa* de maneira sinérgica (ECKERT et al., 2006). Em outro estudo, Cirioni et al. (2006) demonstrou que o pré-tratamento de cateteres venosos centrais (CVC) com o AMP BMAP-28 em combinação com linezolida e vancomicina, foi capaz de controlar biofilmes de *S. aureus* em um modelo *in vivo*. AMPs derivados de insetos também têm demonstrado potencial no combate a biofilmes quando administrado em conjunto com antimicrobianos tradicionais. A coprisina, um AMP similar às defensinas isolado do besouro *Copris tripartitus*, apresentou atividade antimicrobiana e antibiofilme sinérgicas quando testado em combinação com ampicilina, vancomicina e cloranfenicol (Hwang et al. 2013). A melittina, peptídeo isolado do veneno da abelha africanizada *Apis mellifera*, também teve seu efeito sinérgico avaliado em combinação com diversos antimicrobianos e apresentou efeito inibitório sobre a adesão de patógenos gram-negativos, como *P. aeruginosa* e *E. coli* (DOSLER; KARAASLAN; GERCEKER, 2016).

A capacidade dos biofilmes em resistir à terapia antimicrobiana e às defesas imunes do hospedeiro é um motivo de preocupação em diferentes áreas e novas alternativas terapêuticas devem ser continuamente investigadas no controle destas comunidades microbianas. Nesse sentido, a busca por moléculas com atividade antibiofilme a partir da biodiversidade é um campo de pesquisa em plena expansão na biotecnologia podendo ampliar e beneficiar as perspectivas na prevenção e tratamento de infecções associadas a biofilmes.

2. OBJETIVOS:

2.1 Objetivo geral:

O objetivo geral deste estudo foi investigar a existência de compostos com atividade antimicrobiana e antibiofilme em ovos de artrópodes.

2.2 Objetivos específicos:

Os objetivos específicos deste estudo foram:

- (a) Verificar a existência de compostos com atividade antimicrobiana e antibiofilme em ovos de *Anagasta kuehniella*;
- (b) Investigar as propriedades químicas dos compostos presentes nos extratos de ovos que apresentaram atividade;
- (c) Obter uma fração ativa purificada ou parcialmente purificada dos extratos de ovos que apresentaram atividade;
- (d) Demonstrar o efeito antibiofilme dos extratos e da(s) fração(ões) obtidas utilizando técnicas bioquímicas, microbiológicas e microscópicas.

3. RESULTADOS:

Conforme as Normas Para Elaboração De Teses e Dissertações do Programa de Pós-Graduação em Biociências da UFCSPA os resultados obtidos neste estudo serão apresentados forma de artigo científico, redigido em inglês.

4. CONCLUSÕES

Baseando-se na hipótese de que os ovos de artrópodes apresentam mecanismos químicos de defesa contra patógenos microbianos, neste trabalho foi investigada a presença de compostos com atividade antimicrobiana e antibiofilme nos ovos da mariposa *Anagasta kuehniella*. Com os resultados obtidos neste estudo foi possível demonstrar que:

(a) Os ovos da mariposa *Anagasta kuehniella* apresentam compostos com atividade antibiofilme;

(b) A atividade antibiofilme obtida no extrato aquoso dos ovos se deve a presença de proteínas capazes de interferir negativamente na formação de biofilme pela bactéria *S. epidermidis*;

(c) Foi possível obter uma fração ativa parcialmente purificada dos extratos de ovos, contendo dez vezes menos proteínas totais, capaz de inibir a formação de biofilme por *S. epidermidis* em 65%;

(d) Foi observada uma diminuição da presença da matriz do biofilme quando as bactérias foram expostas ao extrato aquoso dos ovos e à fração ativa parcialmente purificada quando comparado ao grupo controle (não tratado) e também concluir que o mecanismo que previne a formação de biofilme é independente da ação inibitória sobre o crescimento celular bacteriano.

Nesse sentido, este trabalho reforça o potencial dos artrópodes como fonte de produtos naturais com aplicações biotecnológicas. Além disso, sugere que a defesa dos ovos de *A. kuehniella* contra a colonização por micro-organismos está em parte associada a compostos proteicos.

5. PERSPECTIVAS

As principais perspectivas para continuidade deste trabalho são:

- A identificação das proteínas com atividade antibiofilme presentes na fração parcialmente purificada obtida do extrato de ovos por meio de técnicas de espectrometria de massas e análise por similaridade de sequências com bancos de dados.
- A realização de outras etapas cromatográficas de purificação da fração obtida, visando elucidar a proteína responsável pela atividade antibiofilme.
- A partir da purificação da proteína ativa, verificar a atividade antimicrobiana e antibiofilme da mesma contra outros micro-organismos como bactérias gram-negativas, outras bactérias gram-positivas, fungos e protozoários de importância médica.
- Avaliar a citotoxicidade da proteína ativa e seu efeito sobre a virulência das bactérias utilizando o hospedeiro alternativo *Galleria mellonella*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ABISADO, Rhea G. et al. "Bacterial Quorum Sensing and Microbial Community Interactions." Ed. Danielle A. Garsin. **mBio** 9.3 2018:e02331–17. *PMC*.

ABRAHAM, Wolf-rainer. Going beyond the Control of Quorum-Sensing to Combat Biofilm Infections. **Antibiotics**, [s.l.], v. 5, n. 1, p.3-16, 9 jan. 2016. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics5010003>.

AKAM, Michael. Arthropods: developmental diversity within a (super) phylum. **PNAS**, v. 97, n. 9. p. 4438–4441, 2000.

ALGBURI, Ammar et al. Control of Biofilm Formation: Antibiotics and Beyond. **Applied And Environmental Microbiology**, [s.l.], v. 83, n. 3, p.00-00, 18 nov. 2017. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.02508-16>.

AOKI, Wataru; UEDA, Mitsuyoshi. Characterization of Antimicrobial Peptides toward the Development of Novel Antibiotics. **Pharmaceuticals**, [s.l.], v. 6, n. 8, p.1055-1081, 21 ago. 2013. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ph6081055>.

ARRIETA, Marie-claire; LESKIW, Brenda K.; KAUFMAN, Reuben. Antimicrobial activity in the egg wax of the African cattle tick *Amblyomma hebraeum*(Acari: Ixodidae). **Experimental & Applied Acarology**, v. 39 n.3 p. 297-313, 2006.

AYASSE, Manfred; PAXTON, Robert J.. Brood Protection in Social Insects. In: HILKER, Monika; MEINERS, Torsten (Ed.). Insects (in) **Chemoecology of Insect Eggs and Egg Deposition**. Berlin: Blackwell, 2008. p. 117-148.

BABITZKE, Paul; ROMEO, Tony. CsrB sRNA family: sequestration of RNA-binding regulatory proteins. **Current Opinion In Microbiology**, [s.l.], v. 10, n. 2, p.156-163, abr. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2007.03.007>.

BAHAR, Ali; REN, Dacheng. Antimicrobial Peptides. **Pharmaceuticals**, [s.l.], v. 6, n. 12, p.1543-1575, 28 nov. 2013. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ph6121543>.

BAO, Aorigele et al. A novel cysteine-free venom peptide with strong antimicrobial activity against antibiotics-resistant pathogens from the scorpion *Opisthophthalmus glabrifrons*. **Journal Of Peptide Science**, [s.l.], v. 21, n. 10, p.758-764, 6 ago. 2015. Wiley-Blackwell. .

BASLÉ, Arnaud et al. Crystal structure of NucB, a biofilm-degrading endonuclease. **Nucleic Acids Research**, [s.l.], v. 46, n. 1, p.473-484, 2018. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkx1170>.

BASSLER, Bonnie L. Small Talk: Cell-to-Cell Communication in Bacteria. **Cell**, [s.l.], v. 109, n. 4, p.421-424, maio 2002. Elsevier BV.

BAXTER, Richard H. G.; CONTET, Alicia; KRUEGER, Kathryn. Arthropod Innate Immune Systems and Vector-Borne Diseases. **Biochemistry**, [s.l.], v. 56, n. 7, p.907-918, 8 fev. 2017. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.biochem.6b00870>.

BJARNSHOLT, Thomas et al. Applying insights from biofilm biology to drug development — can a new approach be developed? **Nature Reviews Drug Discovery**, [s.l.], v. 12, n. 10, p.791-808, 1 out. 2013. Springer Nature.

BJARNSHOLT, Thomas et al. Biofilm formation - What we can learn from recent developments. **Journal Of Internal Medicine**, [s.l.], p.00-00, 1 jun. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/joim.12782>.

BORZOU, Ehsan; NASERI, Bahram; MOHAMMADZADEH-BIDARANI, Mozghan. Adaptation of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) to Rearing on *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera). **Journal Of Insect Science**, [s.l.], v. 16, n. 1, p.12-12, 2016. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jisesa/iew001>.

BOYD, Chelsea D.; O'TOOLE, George A.. Second Messenger Regulation of Biofilm Formation: Breakthroughs in Understanding c-di-GMP Effector Systems. **Annual Review Of Cell And Developmental Biology**, [s.l.], v. 28, n. 1, p.439-462, 10 nov. 2012. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-cellbio-101011-155705>.

BREIDENSTEIN, Elena B. M.; LA FUENTE-NUÑEZ, C. de; HANCOCK, Robert E. W.. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. **Trends In Microbiology**, [s.l.], v. 19, n. 8, p.419-426, ago. 2011. Elsevier BV. .

BROGDEN, Kim A.. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria?. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 3, n. 3, p.238-250, mar. 2005. Nature Publishing Group. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro1098>.

BULET, P.; STÖCKLIN, R. Insect antimicrobial peptides: structures, properties and gene regulation. **Protein and Peptide Letters**, v.12, n.1, p. 3-11, 2005.

BÜTTNER, Henning; MACK, Dietrich; ROHDE, Holger. Structural basis of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation: mechanisms and molecular interactions. **Frontiers In Cellular And Infection Microbiology**, [s.l.], v. 5, p.1-10, 17 fev. 2015. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2015.00014>.

CAMILLI, A.; BASSLER, Bonnie L. Bacterial Small-Molecule Signaling Pathways. **Science**, [s.l.], v. 311, n. 5764, p.1113-1116, 24 fev. 2006. American Association for the Advancement of Science (AAAS).

CHAMBERS, Jacob R.; SAUER, Karin. Small RNAs and their role in biofilm formation. **Trends In Microbiology**, [s.l.], v. 21, n. 1, p.39-49, jan. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2012.10.008>.

CHRISTENSEN G. D. et al. Characterization of clinically significant strains of coagulase-negative staphylococci. **Journal of Clinical Microbiology**. 1983;18(2):258-269.

CHRISTENSEN G. D. et al. Identification of an antigenic marker of slime production for *Staphylococcus epidermidis*. **Infection and Immunity**. 1990;58(9):2906-2911.

CIRIONI, Oscar et al. Pre-treatment of central venous catheters with the cathelicidin BMAP-28 enhances the efficacy of antistaphylococcal agents in the treatment of experimental catheter-related infection. **Peptides**, [s.l.], v. 27, n. 9, p.2104-2110, set. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2006.03.007>.

CORDEIRO, Francielle A. et al. Arachnids of medical importance in Brazil: main active compounds present in scorpion and spider venoms and tick saliva. **J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis**, [s.l.], v. 21, n. 1, p.21-24, 13 ago. 2015. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1186/s40409-015-0028-5>.

COSTERTON, J W et al. Bacterial Biofilms in Nature and Disease. **Annual Review Of Microbiology**, [s.l.], v. 41, n. 1, p.435-464, out. 1987. Annual Reviews. .

COSTERTON, J W et al. Microbial biofilms. **Annual Review Of Microbiology**, v. 49, 711–745 1995.

DEMAIN, Arnold L; SANCHEZ, Sergio. Microbial drug discovery: 80 years of progress. **J Antibiot**, [s.l.], v. 62, n. 1, p.5-16, 2009. Nature Publishing Group. <http://dx.doi.org/10.1038/ja.2008.16>.

DOSLER, Sibel; KARAASLAN, Elif; GERCEKER, A. Alev. Antibacterial and anti-biofilm activities of melittin and colistin, alone and in combination with antibiotics against Gram-negative bacteria. **Journal Of Chemotherapy**, [s.l.], v. 28, n. 2, p.95-103, 3 mar. 2016. Maney Publishing. <http://dx.doi.org/10.1179/1973947815y.0000000004>.

ECKERT, R. et al. Enhancement of Antimicrobial Activity against *Pseudomonas aeruginosa* by Coadministration of G10KHc and Tobramycin. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 50, n. 11, p.3833-3838, 28 ago. 2006. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.00509-06>.

EHRET-SABATIER, Laurence et al. Characterization of Novel Cysteine-rich Antimicrobial Peptides from Scorpion Blood*. **The Journal Of Biological Chemistry** v. 271, n. 47, p. 29537–29544, 1996.

ESTEVEZ, Eliane et al. Antimicrobial activity in the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* eggs: Cellular localization and temporal expression of microplusin during oogenesis and embryogenesis. **Developmental & Comparative Immunology**, [s.l.], v. 33, n. 8, p.913-919, 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dci.2009.02.009>.

FAN, Zheng. et al. Ctriporin, a New Anti-Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Peptide from the Venom of the Scorpion *Chaerilus tricostatus*. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 55, n. 11, p.5220-5229, 2011. American Society for Microbiology.

FIEBIG, Aretha et al. A Cell Cycle and Nutritional Checkpoint Controlling Bacterial Surface Adhesion. **Plos Genetics**, [s.l.], v. 10, n. 1, p.00-00, 23 jan. 2014. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1004101>.

FLEMING, Derek; RUMBAUGH, Kendra. Approaches to Dispersing Medical Biofilms. **Microorganisms**, [s.l.], v. 5, n. 2, p.15-00, 1 abr. 2017. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms5020015>.

FLEMMING, Hans-curt; WINGENDER, Jost. The biofilm matrix. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 8, n. 9, p.623-633, 2 ago. 2010. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2415>.

FLEMMING, Hans-curt et al. Biofilms: an emergent form of bacterial life. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 14, n. 9, p.563-575, set. 2016. Springer Nature.

FOGAÇA, Andréa Cristina et al. Cysteine-rich antimicrobial peptides of the cattle tick *Boophilus microplus*: 202 isolation, structural characterization and tissue expression profile. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 28: 191–200, 2004.

FOGAÇA, Andréa Cristina et al. Ixodidin, a novel antimicrobial peptide from the hemocytes of the cattle tick *Boophilus microplus* with inhibitory activity against serine proteinases. **Peptides** (New York, N.Y. 1980), v. 27, n. 4, p. 667-674, 2006.

FONG, Jiunn N. C.; YILDIZ, Fitnat H.. Biofilm Matrix Proteins. **Microbiology Spectrum**, [s.l.], v. 3, n. 2, p.00-00, 1 abr. 2015. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.mb-0004-2014>.

GAO, Li et al. Pharmacological characterisation of spider antimicrobial peptides. **Protein Pept Lett.**, v. 12, n. 6, p. 507-151, 2005.

GHADAM, Parinaz; AKHLAGHI, Fatemeh; ALI, Ahya Abdi. One-step purification and characterization of alginate lyase from a clinical *Pseudomonas aeruginosa* with destructive activity on bacterial biofilm. **Iranian Journal Of Basic Medical Sciences**, [s.l.], v. 20, n. 5, p.00-00, maio 2017. Mashhad University of Medical Sciences. <http://dx.doi.org/10.22038/ijbms.2017.8668>.

GORMAN, Maureen. J.; KANKANALA, P.; KANOST, M. R.. Bacterial challenge stimulates innate immune responses in extra-embryonic tissues of tobacco hornworm eggs. **Insect Molecular Biology**, [s.l.], v. 13, n. 1, p.19-24, fev. 2004. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2583.2004.00454.x>.

HENGGE, Regine. Principles of c-di-GMP signalling in bacteria. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 7, n. 4, p.263-273, abr. 2009. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2109>

HWANG, In-sok et al. Synergistic Effect and Antibiofilm Activity Between the Antimicrobial Peptide Coprisin and Conventional Antibiotics Against Opportunistic Bacteria. **Current Microbiology**, [s.l.], v. 66, n. 1, p.56-60, 30 set. 2012. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00284-012-0239-8>.

JACKSON, D. W. et al. Biofilm Formation and Dispersal under the Influence of the Global Regulator CsrA of *Escherichia coli*. **Journal Of Bacteriology**, [s.l.], v. 184, n. 1, p.290-301, 1 jan. 2002. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jb.184.1.290-301.2002>.

JACOBS, Chris G. C.; SPAINK, Herman P; ZEE, Maurijn van Der. The extraembryonic serosa is a frontier epithelium providing the insect egg with a full-range innate immune response. **Elife**, [s.l.], v. 3, p.1-21, 2014. ELife Sciences Organisation, Ltd.. <http://dx.doi.org/10.7554/elife.04111>.

JACOBS, Chris. G. C. et al. The extraembryonic serosa protects the insect egg against desiccation. **Proceedings Of The Royal Society B: Biological Sciences**, [s.l.], v. 280, n. 1764, p.20131082-20131082, 19 jun. 2013. The Royal Society. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2013.1082>.

JAZMÍN HUERTA-CANTILLO, FERNANDO NAVARRO-GARCÍA. Properties and design of antimicrobial peptides as potential tools against pathogens and malignant cells. **investigación en Discapacidad** Vol. 5, Núm. 2 2016 pp 96-115

JOAZEIRO, Ana Carolina et al. Antimicrobial Peptides in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.40, n.4, 1-14, 2012

JOSSE, Jérôme; LAURENT, Frédéric; DIOT, Alan. Staphylococcal Adhesion and Host Cell Invasion: Fibronectin-Binding and Other Mechanisms. **Frontiers In Microbiology**, [s.l.], v. 8, p.00-00, 5 dez. 2017. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2017.02433>.

KAPLAN, J. B. et al. Enzymatic Detachment of *Staphylococcus epidermidis* Biofilms. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 48, n. 7, p.2633-2636, 23 jun. 2004. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.48.7.2633-2636.2004>.

KAPRANAS, Apostolos; TENA, Alejandro. Encyrtid Parasitoids of Soft Scale Insects: Biology, Behavior, and Their Use in Biological Control. **Annual Review Of Entomology**, [s.l.], v. 60, n. 1, p.195-211, 7 jan. 2015. Annual Reviews. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-ento-010814-021053>.

KLOOS, W. E. & MUSSELWHITE, M. S. Distribution and persistence of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species and other aerobic bacteria on human skin. **Appl. Microbiol.** 30, 381–385 (1975).

KNORR, Eileen et al. Translocation of bacteria from the gut to the eggs triggers maternal transgenerational immune priming in *Tribolium castaneum*. **Biol. Lett.**, [s.l.], v. 11, n. 12, p.20150885, 2015. The Royal Society.

LOUGHRAN, Allister J. et al. Impact of individual extracellular proteases on *Staphylococcus aureus* biofilm formation in diverse clinical isolates and their isogenic mutants. **Microbiologyopen**, [s.l.], v. 3, n. 6, p.897-909, 25 set. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/mbo3.214>.

LEI, Qian et al. Isolation and Preliminary Characterization of Proteinaceous Toxins with Insecticidal and Antibacterial Activities from Black Widow Spider (*L. tredecimguttatus*) Eggs. **Toxins**, [s.l.], v. 7, n. 3, p.886-899, 16 mar. 2015. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/toxins7030886>.

LIMA-NETTO, Solange de et al. Antiviral effect of the egg wax of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Cytotechnology**, [s.l.], v. 64, n. 5, p.601-606, 23 mar. 2012. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s10616-012-9444-3>.

LORINI, Irineu; SCHNEIDER, S. **Pragas de grãos armazenados: resultados de pesquisa..** Passo Fundo: Embrapa-cnpt, 1994. 47 p.

LORINI, Irineu et al. **Manejo integrado de pragas de grãos e sementes armazenadas.** Brasília: Embrapa Soja, 2015. 84 p.

MARCHINI, Daniela et al. Presence of antibacterial peptides on the laid egg chorion of the medfly *Ceratitis capitata*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.240, n.3, p. 657-663, 1997.

MASTROPASQUA, Maria Chiara et al. Efficient zinc uptake is critical for the ability of *Pseudomonas aeruginosa* to express virulence traits and colonize the human lung. **Journal Of Trace Elements In Medicine And Biology**, [s.l.], v. 48, p.74-80, jul. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtemb.2018.03.009>.

MYLONAKIS E, PODSIADLOWSKI L, MUHAMMED M, VILCINSKAS A. Diversity, evolution and medical applications of insect antimicrobial peptides. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2016;371(1695):20150290

NAMVAR A. E., et al. Clinical characteristics of *Staphylococcus epidermidis*: a systematic review. **GMS Hyg Infect Control**. 2014;9(3):Doc23. DOI: 10.3205/dgkh00024

OKSHEVSKY, Mira; REGINA, Viduthalai R; MEYER, Rikke Louise. Extracellular DNA as a target for biofilm control. **Current Opinion In Biotechnology**, [s.l.], v. 33, p.73-80, jun. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2014.12.002>.

OLDIGES, Daiane P. et al. A *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* cathepsin with dual peptidase and antimicrobial activity. **International Journal for Parasitology**. v. 42, n. 7, 635-645, 2012.

OLIVEIRA, Caio Fernando Ramalho de et al. A chitin-binding lectin from Moringa oleifera seeds (WSMoL) impairs the digestive physiology of the Mediterranean flour larvae, *Anagasta kuehniella*. **Pesticide Biochemistry And Physiology**, [s.l.], v. 142, p.67-76, out. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.01.006>.

ÖNFELT, Tove T.; ROOS, Erik; ENGSTRÖM, Ylva. The GATA factor serpent is required for the onset of the humoral immune response in *Drosophila* embryos. **Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America**, v. 98, n 7, p.3884-3888, 2001.

OTTO, Michael. *Staphylococcus epidermidis* — the 'accidental' pathogen. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 7, n. 8, p.555-567, ago. 2009. Nature Publishing Group. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2182>.

OTTO, Michael. Molecular basis of *Staphylococcus epidermidis* infections. **Seminars In Immunopathology**, [s.l.], v. 34, n. 2, p.201-214, 19 nov. 2012. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00281-011-0296-2>.

POTTERAT, Olivier et al. Boophilin, an antimicrobial sterol amide from the cattle tick *Boophilus microplus*. **Helvetica Chimica Acta**, [s.l.], v. 80, n. 7, p.2066-2072, 3 nov. 1997. Wiley-Blackwell. .

PRATISSOLI, Dirceu et al. Características Biológicas De *Trichogramma Exiguum* Em Ovos De *Anagasta kuehniella* E Sitotroga Cerealella. **Idesia (arica)**, [s.l.], v. 28, n. 1, p.39-42, abr. 2010. SciELO Comision Nacional de Investigacion Cientifica Y Tecnologica (CONICYT). <http://dx.doi.org/10.4067/s0718-34292010000100006>.

RABIN, Nira et al. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. **Future Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 7, n. 4, p.493-512, mar. 2015. Future Science, LTD. <http://dx.doi.org/10.4155/fmc.15.6>.

RAMADHAR, Timothy R et al. Bacterial symbionts in agricultural systems provide a strategic source for antibiotic discovery. **J Antibiot**, [s.l.], v. 67, n. 1, p.53-58, 2014. Nature Publishing Group. <http://dx.doi.org/10.1038/ja.2013.77>.

RAMÍREZ-CARRETO, Santos et al. Peptides from the scorpion *Vaejovis punctatus* with broad antimicrobial activity. **Peptides**, [s.l.], v. 73, p.51-59, 2015. Elsevier BV. .

REGIER, Jerome C. et al. Arthropod relationships revealed by phylogenomic analysis of nuclear protein-coding sequences. **Nature**, [s.l.], v. 463, n. 7284, p.1079-1083, fev. 2010. Springer Nature.

ROLFF, JENS, AND PAUL SCHMID-HEMPEL. "Perspectives on the Evolutionary Ecology of Arthropod Antimicrobial Peptides." *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 371.1695 (2016): 20150297. PMC. Web. 2 June 2018.

ROGERS, Kathie L.; FEY, Paul D.; RUPP, Mark E.. Coagulase-Negative Staphylococcal Infections. **Infectious Disease Clinics Of North America**, [s.l.], v. 23, n. 1, p.73-98, mar. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2008.10.001>.

ROWLEY, A. F.; POWELL, A.. Invertebrate Immune Systems-Specific, Quasi-Specific, or Nonspecific? **The Journal Of Immunology**, [s.l.], v. 179, n. 11, p.7209-7214, 19 nov. 2007. The American Association of Immunologists. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.179.11.7209>.

SANTOS, Daniel M. et al. LyeTx I, a potent antimicrobial peptide from the venom of the spider *Lycosa erythrognatha*. **Amino Acids**, [s.l.], v. 39, n. 1, p.135-144, 28 nov. 2009. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s00726-009-0385-x>.

SCHOENFELDER, Sonja M. K. et al. Success through diversity - How *Staphylococcus epidermidis* establishes as a nosocomial pathogen. **International Journal Of Medical Microbiology**, [s.l.], v. 300, n. 6, p.380-386, 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2010.04.011>.

SHARMA, Komal; SINGH, Ankita Pagedar. Antibiofilm Effect of DNase against Single and Mixed Species Biofilm. **Foods**, [s.l.], v. 7, n. 3, p.42-00, 19 mar. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/foods7030042>.

SMALL, Graham J.. A comparison between the impact of sulfuryl fluoride and methyl bromide fumigations on stored-product insect populations in UK flour mills. **Journal Of Stored Products Research**, [s.l.], v. 43, n. 4, p.410-416, jan. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jspr.2006.11.003>

SMITH, Daniel J. et al. Targeting iron uptake to control *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis. **Eur Respir J**, [s.l.], v. 42, n. 6, p.1723-1736, 8 nov. 2012. European Respiratory Society (ERS). <http://dx.doi.org/10.1183/09031936.00124012>.

STALDER, Thibault; TOP, Eva. Plasmid transfer in biofilms: a perspective on limitations and opportunities. **Npj Biofilms And Microbiomes**, [s.l.], v. 2, n. 1, p.00-00, 19 out. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/npjbiofilms.2016.22>.

WANG, Ling et al. In Vitro Potential of Lycosin-I as an Alternative Antimicrobial Drug for Treatment of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Infections. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 58, n. 11, p.6999-7002, 2014. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.03279-14>.

WILLIAMS, Dustin L.; BLOEBAUM, Roy D.. Observing the Biofilm Matrix of *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 Grown Using the CDC Biofilm Reactor. **Microscopy And Microanalysis**, [s.l.], v. 16, n. 02, p.143-152, 8 mar. 2010. Cambridge University Press (CUP). <http://dx.doi.org/10.1017/s143192760999136x>

WOLSKA, Krystyna I. et al. Genetic control of bacterial biofilms. **Journal Of Applied Genetics**, [s.l.], v. 57, n. 2, p.225-238, 21 ago. 2015. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s13353-015-0309-2>.

WORTHINGTON, Roberta J.; RICHARDS, Justin J.; MELANDER, Christian. Small molecule control of bacterial biofilms. **Organic & Biomolecular Chemistry**, [s.l.], v. 10, n. 37, p.7457-7474, 2012. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c2ob25835h>.

YI, Hui-yu et al. Insect antimicrobial peptides and their applications. **Appl Microbiol Biotechnol**, [s.l.], v. 98, n. 13, p.5807-5822, 2014. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-014-5792-6>.

YOUNGE, Noelle E. et al. Early-life skin microbiota in hospitalized preterm and full-term infants. **Microbiome**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.00-00, 31 maio 2018. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/s40168-018-0486-4>.

ZHENG, Yue et al. Colonization of medical devices by staphylococci. **Environmental Microbiology**, [s.l.], p.00-00, 6 maio 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1462-2920.14129>.

ZHAO, Zhenhuan. et al. Imcroporin, a New Cationic Antimicrobial Peptide from the Venom of the Scorpion *Isometrus maculatus*. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [s.l.], v. 53, n. 8, p.3472-3477, 2009. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aac.01436-08>.

ZIMMER, Karine R. et al. A steroidal molecule present in the egg wax of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* inhibits bacterial biofilms. **Environ Microbiol**, [s.l.], v. 15, n. 7, p.2008-2018, 19 fev. 2013^a. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/1462-2920.12082>.

ZIMMER, Karine R. et al. Egg wax from the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* inhibits *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. **Ticks And Tick-borne Diseases**, [s.l.], v. 4, n. 5, p.366-376, set. 2013^b. Elsevier BV. .

7. ANEXOS

Atestado de aprovação na Comissão de Pesquisa:



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

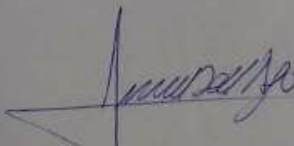
UFCSPA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE
COMISSÃO DE PESQUISA

Atestado

Atestamos que o projeto de pesquisa intitulado "*Compostos com atividade antimicrobiana e antibiofilme de ovos de artrópodes*", de Adriana Seixas, está registrado na Comissão de Pesquisa da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre sob o número 031/2017. Salientamos que este registro **não autoriza o pesquisador a coletar ou analisar dados oriundos de sujeitos de pesquisa.**

Salientamos ainda que tal registro **não garante** a concessão de recursos financeiros por parte da UFCSPA a este projeto de pesquisa.

Porto Alegre, 13 de junho de 2017.



Pedro Dal Lago
Coordenador de Pesquisa
UFCSPA

Página 1 de 1

Rua Serrano Leite, 245 • Porto Alegre, RS • CEP 91050-170 • Fone: 0 xx 51 3303 9000 • Fax: 0 xx 51 3303 8810 • www.ufcspa.edu.br

CURRÍCULO LATTES

Currículo **Lattes**



Fernando Bueno Ferreira Fonseca de Fraga

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/3590852574775384>

Última atualização do currículo em 19/06/2016

Resumo informado pelo autor

É Licenciado em Ciências Biológicas (UFRGS - 2012) e Bacharel em Ciências Biológicas (UFRGS - 2013). Técnico em Biotecnologia pela Escola Técnica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS (2007). Atuou como servidor do quadro de pessoal permanente da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no cargo de Técnico de Laboratório: área Biologia (2008-2015). Atualmente ocupa o cargo de Docente do Ensino Básico Técnico e Tecnológico no Instituto Federal de Santa Catarina (IFSC), onde é professor das disciplinas de Biologia e Microbiologia. Possui experiência profissional nas áreas de Microbiologia e Divulgação Científica.

(Texto informado pelo autor)

Links para Outras Bases:
[SciELO](#) - [Ativos em texto completo](#) 

Nome civil

Nome Fernando Bueno Ferreira Fonseca de Fraga

Dados pessoais

Nascimento 07/01/1988 - Porto Alegre/RS - Brasil

CPF 011.913.520-66

Formação acadêmica/titulação

2016	Mestrado em BIODICIÊNCIAS. Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil Título: Compostos com atividade antituberculosa e antibiofilme de ovos de artrópodes Orientador: Adriana Seixas  Co-orientador: Karine Rigon Zimmer
2012 - 2013	Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil Título: Influência na fonte de carbono na obtenção de compostos bioativos produzidos por micro-organismos isolados de carapádo bovino <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> Orientador: Alexandre José Macedo
2006 - 2012	Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil Título: Ensino e Divulgação de Ciências e Biologia (Reorientar/Atualizar é preciso). Orientador: Russel Teresinha Dutra Rosa
2006 - 2007	Ensino Profissional de nível técnico: Escola Técnica da UFRGS, ET-UFRGS, Brasil
2002 - 2004	Ensino Médio (2o grau). Colégio Estadual Júlio de Castilhos, C.E.J.C., Brasil
1992 - 2001	Ensino Fundamental (1o grau). Escola Estadual de Ensino Fundamental Evarista Flores da Cunha, E.E.E.F.C., Brasil

Formação complementar

2012 - 2012	Extensão universitária em PROCESSOS COGNITIVOS E APLICAÇÃO EM SALA DE AULA. (Carga horária: 8h). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil
2009 - 2011	Formação Integral de Servidores da UFRGS IV. (Carga horária: 81h). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil
2006 - 2006	Curso de curta duração em Toxicologia Forense. (Carga horária: 3h). Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
2006 - 2006	Curso de curta duração em Mecanismos Imunológicos da Reação Transfusional. (Carga horária: 2h). Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
2006 - 2006	Curso de curta duração em III Curso de Sensibilização em Biossegurança. (Carga horária: 2h). Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
2006 - 2006	Curso de curta duração em Genética Forense. (Carga horária: 2h). Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil
2006 - 2006	Extensão universitária em Processos Histotécnicos 2006. (Carga horária: 150h). Escola Técnica da UFRGS, ET-UFRGS, Brasil
2006 - 2006	Curso de curta duração em Atualidades em Terapia Gênica. (Carga horária: 2h). Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, UFCSPA, Porto Alegre, Brasil

Atuação profissional

1. Instituto Federal de Santa Catarina - IFSC

Vínculo institucional

2015 - Atual Vínculo: Servidor público; Enquadramento funcional: Docente de Biologia; Carga horária: 40; Regime: Dedicação exclusiva

Atividades

02/2018 - Atual Outro

Especificação:
Microbiologia e Bioquímica

02/2016 - Atual Ensino médio

Especificação:
Biologia I - Curso técnico Integrado em química

02/2015 - Atual Conselhos, Comissões e Consultoria, Instituto Federal de Santa Catarina - Campus Criciúma

Especificação:
Membro da comissão local IFSC - Sustentável

02/2015 - Atual Outro

Especificação:
Biologia I - Curso Técnico Integrado em Edificações; Biologia I - Curso Técnico Integrado em Mecatrônica

02/2015 - 12/2016 Outro

Especificação:
CTS - Ciência Tecnologia e Sociedade

2. Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

Vínculo institucional

2008 - 2015 Enquadramento funcional: Técnico de Laboratório - Área Biologia; Carga horária: 40; Regime: Integral

2008 - 2008 Vínculo: Iniciação Científica; Enquadramento funcional: Bolsista I.C.; Carga horária: 20; Regime: Parcial

Outras informações:
Pesquisas relacionadas à prospecção e purificação de moléculas não-antibióticas aplicadas no controle de biofilmes patogênicos. Isolamento e seleção de microrganismos associados a esponjas marinhas e análise de seu potencial de controle sobre biofilmes bacterianos.

Atividades

03/2009 - 12/2014 Serviço Técnico Especializado, Faculdade de Agronomia, Departamento de Fitossanidade

Especificação:
Organização e Acompanhamento das Aulas Práticas da Disciplina MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA AGRÍCOLA (AGR04005)

3. Escola Técnica da UFRGS - ET-UFRGS

Vínculo institucional

2007 - 2007 Vínculo: Estagiário; Enquadramento funcional: Monitor de aulas práticas; Carga horária: 16; Regime: Parcial

Atividades

04/2007 - 12/2007 Estágio, Escola Técnica da UFRGS

Estágio:
Aulas práticas de Microbiologia; Processos Fermentativos; Biologia Molecular e Parasitologia

3. Escola Técnica da UFRGS - ET-UFRGS

Vínculo institucional

2007 - 2007 Vínculo: Estagiário, Enquadramento funcional: Monitor de aulas práticas, Carga horária: 16, Regime: Parcial

Atividades

04/2007 - 12/2007 Estágio, Escola Técnica da UFRGS

Estágio:

Aulas práticas de Microbiologia; Processos Fermentativos; Biologia Molecular e Parasitologia

Áreas de atuação

1. Biologia Geral
2. Biotecnologia
3. Bioquímica
4. Microbiologia

Produção

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1.  **DE FRAGA, FERNANDO BUENO FERREIRA FONSECA**
Towards an Evolutionary Perspective in Teaching and Popularizing Microbiology. *Journal of Microbiology & Biology Education.*, v.19, p.1 - 6, 2018.
2.  **FRAGA, F. B. F. F.; ROSA, R. T. D.**
The Microbiology in the *Ciência Hoje* das Crianças magazine: An analysis of scientific popularization texts. *Ciência e Educação (UNESP, Impresso).*, v.21, p.199 - 218, 2015.
3. **FRAGA, F. B. F. F.**
Gigantes Invisíveis: achados recentes revolucionam o conhecimento sobre vírus. *Ciência Hoje.*, v.323, p.16 - 20, 2015.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1.  **FRAGA, F. B. F. F.; ROSA, R. T. D.**
REVISTA CIÊNCIA HOJE DAS CRIANÇAS: CONTRIBUIÇÕES DA DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA PARA O ENSINO DE MICROBIOLOGIA. In: 27º Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2013, NATAL, RN.
27º Congresso Brasileiro de Microbiologia., 2013.
2.  **FRAGA, F. B. F. F.; ROSA, R. T. D.**
Ensino e Divulgação de Ciências e Biologia: (Re)contextualizar é preciso. In: VIII Salão de Ensino UFRGS, 2012, Porto Alegre.
Livro de Resumo do VII Salão de Ensino UFRGS., 2012.
3. **TRENTIN, D. S.; GORZIZA, D. F.; FRAGA, F. B. F. F.; MACEDO, A. J.**
Marine Bacterial Extract Against Pathogenic Biofilms In: XXXVIII Annual Meeting of Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq), 2009, Águas de Lindóia-SP.
Livro de Resumos., 2009.
4.  **FRAGA, F. B. F. F.; TRENTIN, D. S.; MACEDO, A. J.**
Atividade anti-biofilme de metabólitos produzidos por bactérias isoladas de esponjas marinhas In: XX Salão de Iniciação Científica da UFRGS, 2008, Porto Alegre.
Livro de resumos / XX Salão de Iniciação Científica, XVII Feira de Iniciação Científica da UFRGS, III Salão UFRGS Jovem., 2008.
5. **TRENTIN, D. S.; FRAGA, F. B. F. F.; MACEDO, A. J.**
Atividade de extratos bacterianos marinhos frente a biofilmes patogênicos In: 1 Simpósio Internacional em Microbiologia em Clínica, 2008, Gramado.
Livro de Resumos., 2008.

Apresentação de trabalho e palestra

1. 🌟 FRAGA, F. B. F. F.; ROSA, R. T. D.
REVISTA CIÊNCIA HOJE DAS CRIANÇAS: CONTRIBUIÇÕES DA DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA PARA O ENSINO DE MICROBIOLOGIA., 2013.
(Congresso, Apresentação de Trabalho)
2. FRAGA, F. B. F. F.; ROSA, R. T. D.
Ensino e Divulgação de Ciências e Biologia: (Re)contextualizar é preciso, 2012. (Conferência ou palestra, Apresentação de Trabalho)
3. FRAGA, F. B. F. F.; TRENTIN, D. S.; MACEDO, A. J.
Atividade antibiofilme de metabólitos produzidos por bactérias isoladas de esponjas marinhas, 2008. (Outra, Apresentação de Trabalho)
4. FRAGA, F. B. F. F.
Elaboração De Mapas de Risco Para Laboratórios de Biotecnologia, 2007. (Outra, Apresentação de Trabalho)
5. FRAGA, F. B. F. F.
Mapeamento de Risco, 2007. (Outra, Apresentação de Trabalho)

Produção técnica**Demais produções técnicas**

1. FRAGA, F. B. F. F.; ARAUJO, L. A. L.; KLEIN, A. L.; DUTRA, V. P.; PAESI, R.; ROCKENBACH, D.; DIEGUES, C.; LACERDA, M.; CORSO, J.
Curso de Inverno em Biologia Evolutiva: Um Enfoque Para Educadores, 2015. (Extensão, Curso de curta duração ministrado)

Página gerada pelo sistema Currículo Lattes em 19/06/2018 às 11:48:58.