



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

**LEANDRO DOUGLAS SILVA SANTOS**

***Atividade antibacteriana de *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae)  
contra *Pseudomonas aeruginosa*: uma revisão de escopo***

**SÃO CRISTÓVÃO-SE  
2023**

**LEANDRO DOUGLAS SILVA SANTOS**

**Atividade antibacteriana de *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae)  
contra *Pseudomonas aeruginosa*: uma revisão de escopo**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Ciências  
Farmacêuticas da Universidade Federal de  
Sergipe (PPGCF/UFS) ao Curso de  
Mestrado em Ciências Farmacêuticas.

**Orientador:** Prof. Dr. Marcelo Cavalcante  
Duarte

**Linha de pesquisa:** Química e  
Farmacologia de Produtos Naturais e  
Sintéticos

**SÃO CRISTÓVÃO-SE  
2023**

## Folha de Aprovação

AUTOR: LEANDRO DOUGLAS SILVA SANTOS

### **Atividade antibacteriana de *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) contra *Pseudomonas aeruginosa*: uma revisão de escopo**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Sergipe (PPGCF/UFS) e aprovada em 13/02/2023.

#### **Banca Examinadora:**

Documento assinado digitalmente  
 MARCELO CAVALCANTE DUARTE  
Data: 03/08/2023 08:15:59-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Professor Doutor Marcelo Cavalcante Duarte, UFS (Orientador)

Documento assinado digitalmente  
 CRISTIANI ISABEL BANDERO WALKER  
Data: 14/02/2023 11:06:43-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Professora Doutora Cristiani Isabel Banderó Walker (Examinadora interna)

Documento assinado digitalmente  
 LARISSA ISABELA OLIVEIRA DE SOUZA  
Data: 13/02/2023 11:04:20-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Professora Doutora Larissa Isabela Oliveira de Souza (Examinadora externa)

## **AGRADECIMENTOS**

Para a realização deste trabalho, muitas pessoas sempre estiveram ao meu lado, oferecendo suporte, força e apoio em diversos momentos. Dentre estes, gostaria de agradecer:

A meu porto seguro, minha mãe Dona Luiza que sempre se mostrou com amorosas palavras (ou não tão amorosas assim) em momentos difíceis, além de incansáveis incentivos que me proporcionaram estar onde estou e minhas ausências em certos momentos. Por aguentar todo o meu estresse, ouvir minhas reclamações ao decorrer dessa vida.

Quero expressar aqui minha imensa gratidão a Capes pelo apoio financeiro à essa pesquisa e ao meu orientador Prof. Dr. Marcelo Cavalcante Duarte, por me acolher no laboratório e ter acreditado em meu potencial, e ter me dado apoio e oportunidade para a realização desse trabalho, me fez crescer profissionalmente, e a todos os demais professores que muito contribuíram para minha formação acadêmica.

As pessoas em especial: Emanuel Simas, meu namorado, e a Rafael Aleixo meu colega de Pós-Graduação, em conjunto Aytana Vasconcelos, Eduardo Otavio, Adriano José, André Vinícius, Camilo Rafael que sempre estiveram presente comigo, e aqueles que colaboraram para a realização desse trabalho. Aos meus colegas de pesquisa, de laboratório (NUPPNAF e LEFT) e de Pós-Graduação. Eu só tenho a agradecer a vocês e a todos aqueles que de alguma maneira me apoiaram me incentivaram e contribuíram diretamente ou indiretamente para a execução desse trabalho!

## RESUMO

**Atividade antibacteriana de *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) contra *Pseudomonas aeruginosa*: uma revisão de escopo. LEANDRO DOUGLAS SILVA SANTOS. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE, SÃO CRISTÓVÃO, 2023.**

*Pseudomonas aeruginosa*, a principal responsável por infecções nosocomiais e oportunistas, sofre uma contínua pressão seletiva. O desenvolvimento de resistência a antibióticos aumenta a mortalidade, custos e tempo de hospitalização. Entre pesquisas por novos antimicrobianos, os fármacos de origem natural vêm ganhando mais atenção. Dentre as plantas, destaca-se a *Azadirachta indica*, de uso amplo medicinal. Devido ao elevado potencial das substâncias dessa planta, reconhece-se a importância desta pesquisa. O método da revisão foi desenvolvido e descrito de acordo com as diretrizes PRISMA. Foram realizadas buscas em banco de dados (Embase, Scopus, PubMed e Web of Science). A busca pelos títulos evidenciou 368 artigos na triagem inicial, sendo que destes, 13,31% (49) dos artigos originais completos foram incluídos. Ao total dos 49 artigos, foram produzidos 73 extratos, ressaltando que a maior quantidade de extratos foram: 25 (34,24%) etanólicos das folhas, 17 (23,28%) metanólicos das folhas e 13 (17,80%) aquosos das folhas. Em 2 (4,1%) artigos, os componentes dos extratos foram caracterizados por GC/EM. A ausência de padronização das metodologias aponta limitações na comparação dos resultados da atividade antibacteriana dos extratos. Devido a isso, foi realizada a interpretação dos resultados e dados disponibilizados nos artigos e os valores de CIM para determinação qualitativa e quantitativa dos resultados, respectivamente. A maior parte dos extratos (33=45,20%) demonstrando uma zona de inibição média/intermediária, 8 (10,96%) demonstraram atividade muito baixa, 16 (21,92%) extratos não demonstraram atividade sob todas as concentrações testadas e em 16 (21,92%) extratos demonstraram resultados altos de inibição acima dos antibióticos, sendo os extratos etanólicos das folhas os mais ativos (9 = 56,25%). A maior parte de todos extratos avaliados (49=67,12%) demonstraram resultados satisfatório (união dos extratos com resultado alto + médio), sendo os extratos etanólicos das folhas representando 38,77% (19) dos 49 extratos satisfatórios. Os extratos de Mehrotra et al. (2010) e Samy et al. (2013) apresentaram os melhores resultados, em halo de inibição (50µL de 0,002mg/mL de extrato gerou 15mm de halo de inibição) e CIM (0,03125 mg/mL), respectivamente. Esta revisão mostra que os extratos etanólicos produzidos das folhas de *A. indica* são promissores no controle de *P. aeruginosa* quando foram avaliados pelo método de disco-difusão. Os extratos etanólicos das folhas de *A. indica* foram os mais promissores no controle de *P. aeruginosa*. Os dados deste trabalho justificam estudos que visem desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos contra *P. aeruginosa*. Contudo, recomenda-se mais testes para assegurar a segurança e eficácia dos extratos, bem como, de compostos isolados de *A. indica*.

**Palavras-chaves:** *Azadirachta indica*; *Pseudomonas aeruginosa*; antibacteriano; revisão de escopo, produtos naturais.

## ABSTRACT

**Antibacterial activity of *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) against *Pseudomonas aeruginosa*: a scoping review. LEANDRO DOUGLAS SILVA SANTOS. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE, SÃO CRISTÓVÃO, 2022.**

*Pseudomonas aeruginosa*, the main cause of nosocomial and opportunistic infections, is under continuous selection pressure. The development of antibiotic resistance increases mortality, costs, and length of hospital stay. Among searches for new antimicrobials, drugs of natural origin have been gaining more attention. Among the plants, *Azadirachta indica* stands out, with wide medicinal use. Due to the high potential of the substances of this plant, the importance of this research is recognized. The review method was developed and described according to PRISMA guidelines. Databases were searched (Embase, Scopus, PubMed and Web of Science), using the scientific name of the plant and the microorganism (*Azadirachta indica*) and (*Pseudomonas aeruginosa*) as Boolean descriptors and operators. The search for titles showed 368 articles in the initial screening, and of these, 13.31% (49) of the complete original articles were included. A total of 49 articles produced 73 extracts, emphasizing that the largest number of extracts were: 25 (34.24%) ethanolic from the leaves, 17 (23.28%) methanolic from the leaves and 13 (17.80%) aqueous of the leaves. In 2 (4.1%) articles, the components of the extracts were characterized by Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrophotometry GC/MS. The lack of standardization of methodologies points to limitations in the comparison of the results of the antibacterial activity of the extracts. Due to this, the interpretation of the results and data made available in the articles and the MIC values were performed for qualitative and quantitative determination of the results, respectively. Most extracts (33=45.20%) demonstrating a medium/intermediate zone of inhibition, 8 (10.96%) demonstrated very low activity, 16 (21.92%) extracts did not demonstrate activity under all tested concentrations and in 16 (21.92%) extracts showed high inhibition results above antibiotics, with ethanolic leaf extracts being the most active (9 = 56.25%). Most of all evaluated extracts (49=67.12%) showed satisfactory results (combination of extracts with high + medium result), with ethanol extracts from the leaves representing 38.77% (19) of the 49 satisfactory extracts. Extracts from Mehrotra et al. (2010) and Samy et al. (2013) showed the best results in inhibition halo (50µL of 0.002mg/mL of extract generated 15mm of inhibition halo) and MIC (0.03125 mg/mL), respectively. This review shows that the ethanolic extracts produced from the leaves of *A. indica* are promising in the control of *P. aeruginosa* when evaluated by the disc-diffusion method. Ethanol extracts from *A. indica* leaves were the most promising in controlling *P. aeruginosa*. The data from this work justify studies aimed at developing new pharmaceutical products against *P. aeruginosa*. However, further testing is recommended to ensure the safety and efficacy of extracts, as well as isolated compounds from *A. indica*.

**Keywords:** *Azadirachta indica*; *Pseudomonas aeruginosa*; antimicrobial; scope review, natural products.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Folhas de <i>Azadirachta indica</i> .....                                                                                                                                                           | 15 |
| <b>Figura 2.</b> Estruturas de alguns fitoquímicos bioativos isolados de diferentes partes de <i>A. indica</i> .<br>.....                                                                                            | 18 |
| <b>Figura 3.</b> Compostos voláteis antibacterianos isolados de diferentes partes de <i>A. indica</i> .....                                                                                                          | 21 |
| <b>Figura 4.</b> Esquema da patogênese de <i>P. aeruginosa</i> . ....                                                                                                                                                | 28 |
| <b>Figura 5.</b> Fatores de virulência da <i>P. aeruginosa</i> . ....                                                                                                                                                | 30 |
| <b>Figura 6.</b> Estrutura química dos antibióticos $\beta$ -lactâmicos. ....                                                                                                                                        | 35 |
| <b>Figura 7.</b> Fluxograma de seleção de estudos usados na revisão. ....                                                                                                                                            | 45 |
| <b>Figura 8.</b> Distribuição dos artigos incluídos por ano de publicação.....                                                                                                                                       | 46 |
| <b>Figura 9.</b> Distribuição geográfica dos artigos incluídos por país. Índia (33), Bangladesh (3),<br>Paquistão (3), Sudão (2), Nigéria (2), Etiópia (2), Sri Lanka (1), Iraque (1), Omã (1), Camboja<br>(1). .... | 46 |
| <b>Figura 10.</b> Distribuição da taxa de crescimento do mercado de tratamento de infecção por <i>P. aeruginosa</i> .....                                                                                            | 47 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1.</b> Fitoquímicos isolados de diferentes partes de <i>Azadirachta indica</i> .....                                                                                        | 20 |
| <b>Tabela 2.</b> Origem da amostra vegetal e bacteriana, parte usada para avaliação da atividade antimicrobiana. ....                                                                 | 48 |
| <b>Tabela 3.</b> Pesquisa fitoquímica de <i>A. indica</i> conduzidas nos artigos incluídos.....                                                                                       | 52 |
| <b>Tabela 4.</b> Extratos de <i>A. indica</i> testados contra <i>P. aeruginosa</i> (2007-2022).....                                                                                   | 55 |
| <b>Tabela 5.</b> Tabulação resumida dos resultados de inibição dos extratos apresentados pelos autores.....                                                                           | 61 |
| <b>Tabela 6.</b> Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos extratos de <i>A. indica</i> testados contra <i>P. aeruginosa</i> (2007-2022). .... | 62 |

## SUMÁRIO

|                                                                                |           |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                                      | <b>11</b> |
| <b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>                                            | <b>13</b> |
| 2.1 Uso de Plantas na Promoção de Saúde .....                                  | 13        |
| 2.2 A família <i>Meliaceae</i> e a espécie <i>Azadirachta indica</i> .....     | 15        |
| 2.3 Aspectos fitoquímicos da <i>Azadirachta indica</i> .....                   | 17        |
| 2.5 Características gerais de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....              | 26        |
| 2.6 Patogenia e fatores patogênicos.....                                       | 27        |
| 2.7 Fatores de virulência .....                                                | 30        |
| 2.7.1 Componentes estruturais .....                                            | 30        |
| 2.7.1.2 Flagelo.....                                                           | 31        |
| 2.7.1.3 Lipopolissacarídeos.....                                               | 31        |
| 2.7.1.4 Alginato .....                                                         | 32        |
| 2.7.1.5 Biofilmes .....                                                        | 32        |
| 2.8 Antimicrobianos .....                                                      | 34        |
| 2.9 Mecanismos de Resistência em <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....           | 35        |
| 2.9.1 Enzimas $\beta$ -lactamases .....                                        | 35        |
| 2.9.2 Bombas de efluxo .....                                                   | 36        |
| 2.9.3 Perda da porina da membrana externa .....                                | 37        |
| 2.9.4 Resistência a aminoglicosídeos.....                                      | 38        |
| 2.9.5 Resistência a fluoroquinolonas .....                                     | 39        |
| 2.9.6 Resistência a polimixinas.....                                           | 39        |
| 2.10 Classificação de <i>P. aeruginosa</i> resistentes a antimicrobianos ..... | 39        |
| <b>3 OBJETIVOS .....</b>                                                       | <b>41</b> |
| 3.1 Objetivo geral.....                                                        | 41        |
| 3.2 Objetivos específicos.....                                                 | 41        |
| <b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>                                              | <b>42</b> |
| 4.1 Protocolo.....                                                             | 42        |
| 4.2 Critérios de elegibilidade .....                                           | 42        |
| 4.2.1 Critérios de inclusão .....                                              | 42        |
| 4.2.2 Critérios de exclusão.....                                               | 43        |
| 4.3 Estratégia de busca.....                                                   | 43        |
| 4.3.2 Seleção dos descritores .....                                            | 43        |
| 4.4 Extração de dados.....                                                     | 44        |
| <b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                          | <b>45</b> |

|                          |           |
|--------------------------|-----------|
| <b>6 CONCLUSÃO.....</b>  | <b>64</b> |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b> | <b>65</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A importância que as plantas possuem vai muito além do interesse alimentício, relaciona-se também à aplicação de seus compostos químicos em processos biotecnológicos. As plantas produzem metabólitos secundários com funções de defesa e sobrevivência em seu habitat. Dessa forma, a evolução humana está atrelada, desde milhares de anos, à extração de seus compostos químicos para uso terapêutico, promovendo a cura de doenças ou atuando no alívio dos sintomas (ALVES, 2017; MONTEIRO; BRANDELLI, 2017).

Estudos com produtos naturais objetivando à descoberta de compostos que tenham atividades biológicas relevantes, como é o caso dos antimicrobianos, é de extrema importância para a promoção de saúde à população e campo propício para o desenvolvimento técnico-científico (FERREIRA *et al.*, 2011). Nesse contexto, extratos obtidos de plantas medicinais têm sido relatados como ricos em compostos com ações antimicrobianos (SARAVANAN *et al.*, 2014).

Dentre as diversas plantas ricas em compostos químicos com ação antimicrobiana, pode-se citar a espécie *Azadirachta indica* (A. Juss), uma planta da família Meliaceae, popularmente conhecida como “Nim”. Essa planta é uma árvore tropical perene, nativa do subcontinente indiano e também encontrada por quase todo Brasil (SARKAR *et al.*, 2020; SUBAPRIYA; NAGINI, 2005). Tem sido usado na medicina tradicional desde os tempos remotos para o tratamento de uma variedade de doenças bacterianas humanas (PATEL *et al.*, 2016; AL AKEEL *et al.*, 2017).

As folhas, sementes e raízes do Nim contêm diversos compostos fitoquímicos que proporciona sua atividade (ALZOHAIYRY, 2016; ALTAYB *et al.*, 2022; MAHMOUD *et al.*, 2011). Entre as diversas atividades farmacológicas relatadas para esta espécie, se destaca a atividade antimicrobiana. O potencial antibacteriano do extrato de folhas de *A. indica* foi comprovado contra diferentes espécies de bactérias, incluindo *E. coli*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* e *Pseudomonas spp.* (ALI *et al.*, 2021; KUMAR *et al.*, 2010; JESSINTA *et al.*, 2014).

A *P. aeruginosa* é uma das bactérias de maior importância no aspecto clínico e epidemiológico (REYNOLDS; KOLLEF, 2021). Ela é a principal responsável por infecções nosocomiais, dentre os bacilos Gram-negativos aeróbicos e por infecções oportunistas em indivíduos com imunidade comprometida em todo mundo. Inclusive no Brasil, ela é o microrganismo mais prevalente na infecção primária da corrente sanguínea em unidades de terapia intensiva (UTI) e um número significativo de amostras de pacientes com infecções

hospitalares que não-sensíveis aos carbapenêmicos de amplo espectro (FIGUEREDO et al., 2021; CAVALCANTI et al., 2015; ARAUJO et al., 2016). Esta é capaz de causar infecções em locais de procedimentos cirúrgicos ou queimaduras, podendo até causar sepse severa (DAIKOS et al., 2021; NEVES et al., 2011). A *P. aeruginosa* sofre uma contínua pressão seletiva em espaços hospitalares, ao mesmo tempo que é considerada pela sociedade científica internacional como uma bactéria multirresistente (MORA et al., 2016). O desenvolvimento de diversos sistemas de resistência implica na eficácia de ação de quase todos os antibióticos usados para o tratamento de infecções por *P. aeruginosa*, levando um elevado custo a terapia dos indivíduos infectados e um aumento do tempo de hospitalização e de óbitos (DOI et al., 2017; FUENTEFRÍA, 2009).

A resistência antimicrobiana é um dos maiores problemas encarados pela saúde mundial, e é um fator importante de enfermidade e mortalidade (DADGOSTAR et al., 2019; REYGAERT et al., 2018). Atualmente, está se tornando a principal causa de morte globalmente (MURRAY et al., 2022). Um alto número de bactérias adquiriu e desenvolveu mecanismos de resistência antimicrobiana, o que se tornou um problema para sistemas de saúde com o alto custo econômicos crescentes (REYGAERT et al., 2018; SANTAJIT et al., 2016). Com o aumento da resistência a antimicrobianos, existem reduzidas opções para o tratamento de indivíduos infectados e, resultando num maior número de óbitos (OMS, 2019). Nos Estados Unidos da América, acontecem 23 mil óbitos associados com resistência a antimicrobianos por ano (REYGAERT et al., 2018).

O aparecimento de doenças infecciosas e o desenvolvimento de resistência a antimicrobianos em bactérias, levou a diminuição da efetividade ou da falha dos agentes antibacterianos atuais, causando uma emergente necessidade do desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos seguros e eficientes (ASLAM et al., 2018; KHAMENEH et al., 2019). Compostos obtidos de plantas podem ser promissores como fonte de novos tipos de antimicrobianos. Há diversos tipos metabólitos secundários presentes em extrato de plantas que podem desempenhar potencial ação contra bactérias sensíveis e multirresistentes (KHAMENEH et al., 2019; SUBRAMANI et al., 2017).

As informações supracitadas sobre o aumento de casos com cepas multirresistentes mostram a necessidade da identificação de alvos de drogas e desenvolvimento de novos tratamentos eficazes para *P. aeruginosa* para melhorar a saúde humana. O presente trabalho se concentrou em revisar na literatura científica o progresso da investigação da atividade antimicrobiana dos extratos brutos de *Azadirachta indica* em cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Uso de Plantas na Promoção de Saúde

O uso de plantas na profilaxia e tratamento de doenças é extremamente antigo, desde antes da civilização, muitas dessas plantas foram ou ainda são usadas para várias finalidades terapêuticas, compondo um segmento da medicina tradicional abundantemente usada por vários povos ao redor do mundo (SINGH *et al.*, 2012). Porém, foi com o conhecimento desenvolvido sobre plantas medicinais utilizadas na medicina da Grécia antiga que se baseou a medicina ocidental (JAMSHIDI-KIA *et al.*, 2018). Hipócrates (460-377 AEC), da Grécia antiga, tido como o pai da medicina, usou e registrou inúmeras drogas feitas de plantas (HASSAN, 2015). Teofrasto (371-287 AEC), “o pai da botânica”, pupilo de Platão e Aristóteles, descreveu em seu trabalho “*Historia Plantarum*” a forma de coleta e preparo de plantas medicinais, além de estabelecer as singularidades e qualidades terapêuticas, verificando com atenção as características farmacêuticas e farmacológicas. Este trabalho foi usado como fonte válida de referência por 2 mil anos (RAPINI, 2014).

A decadência da cultura grega e a ascensão da cultura romana permitiu que os tratamentos voltassem a ser uma fusão de magia e religião (SANTACROCE *et al.*, 2020). Avanços no conhecimento sobre plantas medicinais só voltaram a ocorrer com os trabalhos de Dioscórides (40 - 90 AEC) (INOUE *et al.*, 2019). As características e finalidade de centenas plantas foram compiladas no “*De Materia Medica*” um século após Cristo. Em suas viagens em conjunto com o exército de Nero como cirurgião, ele foi capaz de disseminar seu conhecimento sobre plantas. O “*De Materia Medica*” foi usado como referência por 15 séculos na Idade Média na Europa, período de pouca aquisição de conhecimento sobre plantas (LEES *et al.*, 2021).

A compreensão da existência de substâncias responsáveis pelas propriedades farmacológicas de uma determinada planta é creditada à Paracelso (1493 – 1541 EC). É visto como o introdutor de substâncias químicas na produção de medicamentos, iniciou a praticar a extração de substâncias que foram chamadas de “*Quinta Essentia*”, sob a forma de extratos alcoólicos e de tinturas, sendo provavelmente o primeiro entendimento de princípio bioativo (CHOFFNES, 2016).

O acelerado avanço científico ampliou e diversificou fortemente os conhecimentos sobre as plantas (LI; LOU, 2018). Friedrich Sertürner realizou o primeiro isolamento de substância química, a morfina do ópio (*Papaver somniferum*) em 1806, a morfina começou a ser usada por volta de 1850 como anestésico em pequenas cirurgias, em pós-operatório e terapia

de dor crônica (DEVEREAUX *et al.*, 2018).

O princípio ativo analgésico e anti-inflamatório da casca de salgueiro (*Salix alba*), a salicina, isolada em 1828 por Johan Buchner e em 1829 em quantidade maior por Henri Leroux (CULLEN *et al.*, 2020). Da salicina, Raffaele Piria em 1839, descreveu a descoberta de uma substância nova, o ácido salicílico, feita através da hidrólise da salicina, em glicose e álcool salicílico, seguida da oxidação deste (BOISON *et al.*, 2016). Do ácido salicílico, Charles Frédéric Gerhardt em 1853 sintetizou o ácido acetilsalicílico pela primeira vez ao combinar o salicilato de sódio com cloreto de acetila. Em 1897, Felix Hoffman do laboratório Bayer conjugou o ácido salicílico com acetato, obtendo também ácido acetilsalicílico (*Aspirina*®), que observou ser menos tóxico. O ácido acetilsalicílico foi o primeiro medicamento sintético na história farmacêutica, sendo um dos fármacos anti-inflamatórios mais antigos e mais usados (MONTINARI *et al.*, 2019; WICK, 2012).

Hoje, se sabe que as propriedades terapêuticas das plantas são originárias da composição e das características das substâncias que eles produzem (SHAKYA, 2016). O uso de plantas como forma de tratamento superou todas as barreiras ao decorrer do processo evolutivo e chegou até a atualidade, sendo amplamente utilizada por grande parcela da população de todo o mundo como fonte de recurso terapêutico eficaz (KARUNAMOORTHY *et al.*, 2013).

O avanço da tecnologia permitiu a descoberta de novos fármacos originários de plantas conduziu ao isolamento de muitas substâncias que ainda hoje são usadas ou então serviram como protótipos para a síntese de novas substâncias com atividades medicinais (KVIECINSKI, 2013). Contudo, mais de 40% de todo princípio ativo de medicamentos disponíveis hoje permanece sendo de origem vegetal (PAN *et al.*, 2014). Estima-se que 25% dos atuais fármacos disponíveis foram desenvolvidos a partir de plantas (HOSSEINZADEH *et al.*, 2015). Dos 252 medicamentos que a OMS considerados básicos e essenciais, 11% são originados de plantas e um número considerável são fármacos sintéticos produzidos de precursores naturais (AKINYEMI *et al.*, 2018).

Atualmente, tem se observado que apesar do domínio de compostos sintéticos no arsenal terapêutico, vem acontecendo o resgate à valorização de práticas medicinais consideradas como tradicionais ou não científicas, com destaque aos fitoterápicos, que são usadas especialmente como antimicrobiano (MATOS, 2021). Entre populações de baixa renda de países em desenvolvimento, que possuem pouco ou nenhum acesso aos medicamentos alopáticos, a utilização de medicamentos tradicionais virou uma prática usual (GUREJE *et al.*, 2015). Contudo, a aceitação da medicina popular como uma forma de tratamento tem crescido entre todos os grupos socioeconômicos (GAGNIER *et al.*, 2016).

O potencial farmacológico das plantas é ainda insuficientemente explorado. Estima-se que há entre 250 mil a 500 mil espécies de plantas no total, onde apenas uma pequena porcentagem tenha sido submetida à análise. A quantidade de estudos científicos em procurar novas descobertas e comprovação sobre as atividades de plantas medicinais, vem crescendo e demonstram serem promissores, sendo um grande interesse da indústria farmacêutica e instituições de pesquisa (CECHINEL FILHO; ZANCHETT, 2020).

## 2.2 A família *Meliaceae* e a espécie *Azadirachta indica*

A família *Meliaceae* possui cerca de 1.400 espécies (KURAVADI *et al.*, 2019). Essa família faz parte da ordem *Sapindales*, que compreende 50 gêneros distribuídos predominantemente nos trópicos de todo mundo, sendo que dezesseis espécies que formam quatro gêneros estão presentes na região sul do Brasil de forma nativa. Dentre as espécies existentes no Brasil podem-se destacar os gêneros *Cabralea*, *Cedrela*, *Guarea*, *Trichilia*, *Melia* e *Azadirachta* (FERNANDES, 2022).

**Figura 1.** Folhas de *Azadirachta indica*



**Fonte:** O autor, 2023.

Plantas exóticas que se adaptaram ao clima do brasileiro têm demonstrado diversas propriedades medicinais, como por exemplo o Nim (*Azadirachta indica*) (**Figura 1**), de origem do sudeste asiático (Myanmar e Índia), uma região com clima tropical, essa planta pertence à família *Meliaceae*. O gênero *Azadirachta* foi descrito por Adrien-Henri de Jussieu e publicado em *Mémoires du Muséum d'Histoire Naturelle* (ATTRI *et al.*, 2020; MAITHANI *et al.*, 2011).

As plantas desta espécie são árvores perenes, monoicas, com tricomas simples, sua altura

pode variar de 15 até 20 metros, seu tempo de vida pode chegar a 200 anos ou mais. O diâmetro de sua copa varia de 8 até 15 metros. O tronco é curto semirreto ou reto, robusto com diâmetro de 30 até 80 centímetros, ritidoma de cor marrom-avermelhada, com fissuras ou enrugado. Sistema radicular com uma raiz pivotante e outras raízes laterais. São árvores atrativas, com numerosas folhas de até 40 cm de comprimento, são do tipo imparipinadas, com 4–9 pares de folíolos opostos; ovado-lanceolados a lanceolados, com até 9 cm de comprimento e 3 cm de largura, ápice largamente acuminado, base muito assimétrica, margens grosseiramente serradas, glabras, de cor verde-claro (SILVA *et al.*, 2019).

Possui inflorescência do tipo panícula axilar, com comprimento que chega a 35 cm. As flores apresentam cálice penta-lobado, com 5 pétalas livres, imbricadas, de cor branca, formando um tubo estaminal cilíndrico, terminado por 10 apêndices arredondados ou truncados, emarginados ou bilobados, às vezes unidos; disco anular, fundido à base do ovário; ovário 3-locular, cada lóculo com 2 óvulos colaterais, estilete expandido, terminando em 3 lobos estigmáticos agudos e fundidos, de cor creme. Seu fruto é uma drupa elipsóide, com 1,5 a 1,8cm de comprimento, de cor verde ficando amarelo ao decorrer do amadurecimento do fruto; 1–2 sementes de cor marrom com endocarpo cartilaginoso e amargo (SILVA *et al.*, 2019).

O desenvolvimento do Nim ocorre preferencialmente em clima tropical, apesar de poder se adaptar ao clima subtropical, entretanto, sua produção de frutos se compromete, nessas regiões o Nim apresenta crescimento rápido e perenifólio (ADHIKARI *et al.*, 2020). Na Índia, o Nim é famoso pela sua tolerância à escassez de água, visto que cresce em regiões áridas do país (NAZ *et al.*, 2022). Em 1984, ocorreu a sua introdução no Brasil, atualmente é encontrado nas várias regiões do Brasil. Por ter um amplo potencial farmacológico é alvo de múltiplos estudos no uso medicinal (FERNANDES, 2017).

O uso medicinal do Nim na Índia existe há mais de 4 milênios em virtude de suas propriedades medicinais apresentadas por suas folhas, frutos, sementes, casca e raízes para o tratamento de múltiplas moléstias como: hanseníase, sífilis, distúrbios gastrointestinais, infecções dermatológicas e odontológicas, além de problemas respiratórios (DUBEY, 2014; TEMBE-FOKUNANG *et al.*, 2019). Relatos científicos vêm apontando que extratos de folhas de Nim demonstraram propriedades antimicrobianas, vermífugo, antimalárico, cardioprotetoras e na eliminação de radicais livres (ALZOHAIKY, 2016; MOIN *et al.*, 2021). Além de atividade viricida contra o Cocksackievirus B-4, interferindo no estágio inicial do ciclo de replicação do vírus (UZZAMAN, 2020).

Enquanto que extratos da casca do Nim (ECN) possuem atividades como: anti-inflamatória, antialérgica, antitumoral, antifúngica, antiprotozoárias (MANOGARAN *et al.*,

1998; BISWAS et al., 2002). Há relato de atividade hepatoprotetora contra danos hepáticos em ratos albinos com fortes evidências de propriedades antioxidantes (GOMASE *et al.*, 2011). Curiosamente, o ECN também tem efeito inibitório na propagação do vírus Herpes Simples (HSV) tipo 1 na fusão viral e o vírus da hepatite de camundongo (MHV), um coronavírus murino, ao prevenir a disseminação célula a célula (FACCIN-GALHARDI *et al.*, 2019; SARKAR *et al.*, 2020).

### 2.3 Aspectos fitoquímicos da *Azadirachta indica*

Ao longo do tempo, pesquisas mostraram que *Azadirachta indica* é rica em uma ampla gama de compostos fitoquímicos, dos quais vários têm potencial farmacológico, presentes em todas as partes da planta (MAIA, 2021). De todos esses compostos, os triterpenos lideram o uso terapêutico. Especialmente, Nimbina (triterpeno) mostrou ter propriedades antipiréticas, fungicidas, anti-histamínicas e antissépticas. Além disso, a Nimbina está associada a efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes (NAIK *et al.*, 2014; SCHUMACHER *et al.*, 2011).

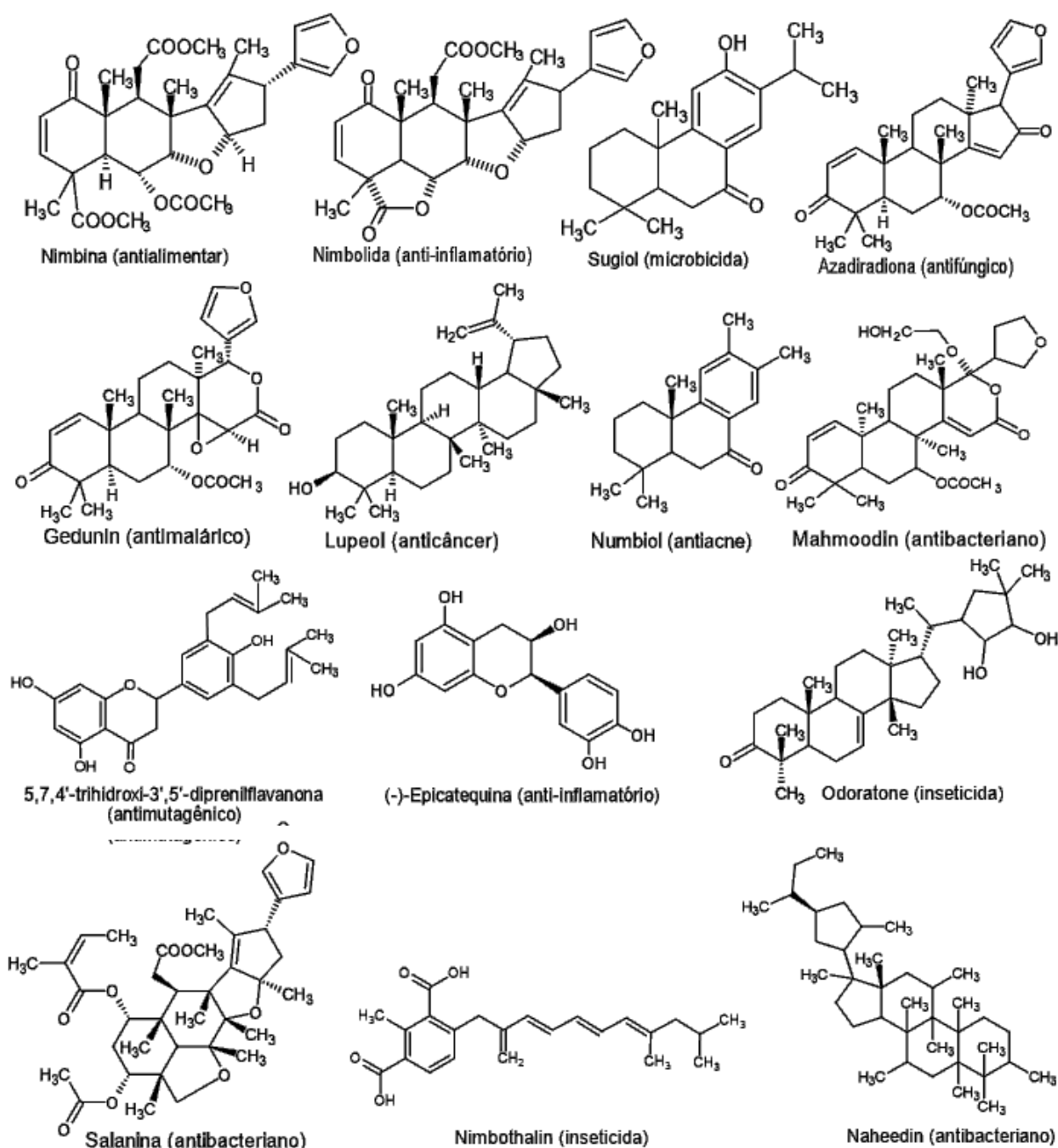
Também são encontrados no Nim os flavonoides, que funcionam como inibidores da biossíntese de prostaglandinas e das enzimas como proteínas quinases e fosfodiesterases, todas envolvidas na inflamação (BATISTA *et al.*, 2018; HERNÁNDEZ-AQUINO; MURIEL, 2018). Os extratos são a forma mais típica de Nim e sua análise fitoquímica aprofundada confirmou a presença, em grandes quantidades de triterpenos, flavonoides e saponinas, enquanto outros componentes, como catequinas e nimbinas, parecem estar presentes em quantidades menores (NAIK *et al.*, 2014). Outros metabólitos encontrados nos extratos de Nim são: limonóides, taninos, alcaloides, terpenoides, açúcar redutor, catequinas, esteróis e ácido gálico (ROMA *et al.*, 2015; SALEEM *et al.*, 2018).

A *Azadirachta indica* é uma árvore rica em taninos, alcaloides, flavonoides, terpenoides, açúcares redutores, glicosídeos, trissulfeto cíclico, esteróis insaturados e saponinas (ATANGWHO et al., 2009; BIU et al., 2010; NWAKAEZE et al., 2013; OLABINRI et al., 2013; SUSMITHA et al., 2013; VASANTHARAJ et al., 2013). Novos triterpenóides tetracíclicos, Zafaral e Meliacinanidrido, da mesma forma como, flavonoides (Genisteína 7-O-glicosídeo e (-)-Epi-catequina) e um tetranortriterpenóide, Nimonol, junto com dois constituintes conhecidos, Nimocinol e Isomeldenina, foram extraídos das folhas da árvore (GOPALAKRISHNAN et al., 2002; KANWAL et al., 2011; SIDDIQUI et al., 1999; SIDDIQUI; RASHEED, 2001; 2004).

A triagem completa dos constituintes químicos de *A. indica* usando cromatografia de

camada fina de alto desempenho mostrou a presença de rutina,  $\beta$ -sitosterol, ácido elágico, ácido ferúlico, lupeol e quercetina (YIN et al., 2005; PANDEY et al., 2014). Os componentes fitoquímicos dos extratos de folhas e casca foram investigados, contendo estigmasterol, terpinen-4-ol, sugiol, 4-cymene, nimbiol,  $\alpha$ -terpinene e tocoferol (NAND et al., 2012). As estruturas de alguns fitoquímicos bioativos selecionados isolados de diferentes partes de *A. indica* são demonstradas na **Figura 2**.

**Figura 2.** Estruturas de alguns fitoquímicos bioativos isolados de diferentes partes de *A. indica*.



**Fonte:** O autor, 2023.

Resinas de ápice caulinar e folhas imaturas continham flavanona isoprenilada (8-prenil-5,7-di-hidroxi-3'-(3-hidroxi-3,3-dimetilbutil)-4'-metoxiflavanona (BALASUBRAMANIAN et al., 1993). Sharma e colaboradores (1998) isolaram compostos não terpenoides, como nimbotalina e n-tridecil benzeno, de folhas utilizando a extração com etanol. A investigação das folhas mostrou conter isoprenóides, flavanona (8,3'-di-isoprenil-5,7-di-hidroxi-4'-metoxiflavanona), nonisoprenóides e meliacina (2',3'-deidrosalannol) (GARG; BHAKUNI, 1984, 1985). Da mesma maneira, triterpenóides, 22,23-diidronimocinol e desfurano-6- $\alpha$ -hidroxiazadiradiona foram isolados do extrato metanólico das folhas (SIDDIQUI et al., 2002). As folhas também tinham azadiradiona, tetraterpenoide (14,15-epoxinimonol) e flavonoides, especialmente quercetina (GOVINDACHARI et al., 2000; 1999; CHAKRABORTY et al., 1989). A **Tabela 1** mostra alguns dos fitoquímicos já isolados de várias partes de *A. indica*.

**Tabela 1.** Fitoquímicos isolados de diferentes partes de *Azadirachta indica*.

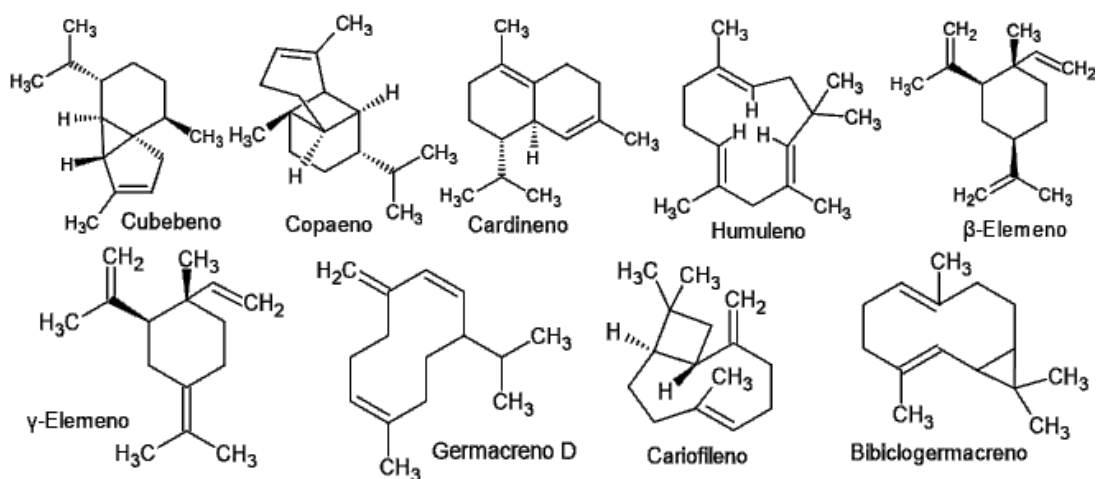
| Parte    | Origem                         | Fitoquímico isolado                                                                                                                                                                                                                 | Natureza do extrato                                      | Referência                                    |
|----------|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Folhas   | Delhi, Índia                   | Estigmasterol, terpinen-4-ol, sugiol, 4-cymene, nimbiol, $\alpha$ -terpineno e vitamina E                                                                                                                                           | Diclorometano e extratos metanólicos                     | Nand et al., 2016                             |
|          | Kogi, Nigéria                  | Esteróides, glicosídeos, flavonóides, triterpenóides, carboidratos, alcaloides e antiquinona                                                                                                                                        | Clorofórmio, aquoso e extratos etanólicos                | Rapheal, 2012                                 |
|          | Bengaluru, Índia               |                                                                                                                                                                                                                                     | Extrato etanólico                                        | Prashanth; Krishnaiah, 2014                   |
|          | Carachi, Paquistão             | Zafaral, meliacinanidrido, nimocinol e isomeldenina                                                                                                                                                                                 | Extrato etanólico                                        | Siddiqui et al., 2004                         |
|          | Índia                          | Nimonol                                                                                                                                                                                                                             | Extrato etanólico                                        | Gopalakrishnan et al., 2002                   |
|          | Índia                          |                                                                                                                                                                                                                                     | Extrato metanólico                                       | Suresh et al., 1997                           |
|          | Patiala, Índia                 | Nimbothalin e n-tridecil benzeno                                                                                                                                                                                                    | Extrato etanólico                                        | Sharma et al., 1998                           |
|          | Índia                          | Isoprenóide, flavanona (8,3'-di-isoprenil-5,7-di-hidroxi-4'-metoxiflavanona), não isoprenóides e meliacina                                                                                                                          | Extrato em etanol fracionado com clorofórmio e n-butanol | Garg; Bhakuni, 1984                           |
|          | Carachi, Paquistão             | 22,23-Diidronimocinol e desfurano-6- $\alpha$ -hidroxiazadiradiona                                                                                                                                                                  | Extrato metanólico                                       | Siddiqui et al., 2002                         |
|          | Carachi, Paquistão             | Meliatetraolenone e odorone                                                                                                                                                                                                         | Extrato metanólico                                       | Siddiqui et al., 2003                         |
| Raízes   | Cairo, Egito                   | Hidrocarbonetos (pentacosano, tetracosano, $\beta$ -germacreno, $\beta$ -cariofileno e dodeceno) e compostos oxigenados (octadecanol, verdiflorol, farnesol e $\alpha$ -terpineol)                                                  | Óleo extraído com vapor                                  | El-Hawary et al., 2013                        |
|          | Carachi, Paquistão             | Triterpenos tetracíclicos                                                                                                                                                                                                           | Extrato etanólico                                        | Siddiqui; Faizi, 1984; Siddiqui et al., 1986. |
|          | Trivandrum, Índia              | Ácido $\alpha$ -linolênico                                                                                                                                                                                                          | Extrato de n-hexano                                      | Nair et al., 1997                             |
|          | Carachi, Paquistão             | Nimbilina e nimolilina                                                                                                                                                                                                              | Diclorometano e extratos metanólicos                     | Ara et al., 1989b                             |
|          | Japão                          | flavonoides prenilados                                                                                                                                                                                                              | Extrato metanólico                                       | Nakahara et al., 2002                         |
|          | Carachi, Paquistão             | Flowerine, flowerone, o-metilazadironolida e diepoxiazadirol                                                                                                                                                                        | Extrato metanólico                                       | Siddiqui et al., 2003                         |
|          | Carachi, Paquistão             | Sesquiterpenos, compostos aromáticos, ácidos graxos e ésteres de ácidos graxos, esteróides e alguns hidrocarbonetos                                                                                                                 | Extrato de n-hexano                                      | Siddiqui et al., 2009                         |
|          | Carachi, Paquistão             | Azharona, azadirona e isoazadironolida                                                                                                                                                                                              | Extrato metanólico                                       | Siddiqui et al., 2006                         |
|          | Islamabade, Paquistão          | Genisteína 7-O-glicosídeo e (-)-epi-catequina                                                                                                                                                                                       | Metanol, n-hexano e extratos de acetato de etila         | Kanwal et al., 2011                           |
|          | Bombaim, Índia                 | Álcool tetranortriterpênico                                                                                                                                                                                                         | Óleo de semente                                          | Gaikwad et al., 1990                          |
| Sementes | Rajastão, Índia                | Compostos organossulfurados                                                                                                                                                                                                         | Extrato de éter dietílico                                | Balandrin et al., 1988                        |
|          | Benin, Senegal, Haitie e Índia | Salanina                                                                                                                                                                                                                            | Extrato volátil de vapor n-hexano                        | Mubarak; Kulatilleke, 1990                    |
|          | Mandalai, Myanmar              | Azadiractina M, azadiractina N, 11-epi-azadiractina H, triterpenóide(1 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -diacetoxiapotirucall-14-eno-3 $\alpha$ ,21,22,24,25-pentaol), odorona e 2 $\beta$ ,3 $\beta$ ,4 $\beta$ -trihidroxipregnan-16 -1       | Extrato metanólico                                       | Yamasaki et al., 1988                         |
|          | Bangalore, Índia               | 11-Hidroxi-azadiractina-B, 1-tigloil-3-acetilazadiractinina, 1,2-diacetil-7-tigloil-12-hidroxivilasinina e 23-desmetillimocina-B                                                                                                    | Extrato metanólico                                       | Luo et al., 1999; Luo et al., 2000            |
|          | Maiduguri, Nigéria             | 1 $\alpha$ -Metoxi-1,2-dihidroepoxiazadiradiona, 1 $\beta$ ,2 $\beta$ -diepoxiazardiradiona, 7-acetilneotriquilena, desacetil-7-benzoilazadiradiona 7-desacetil-7-benzoilepoxiazadiradiona e 7-desacetil-7-benzoil-gedunina         | Extrato de éter de petróleo dissolvido em metanol        | Kumar et al., 1996                            |
|          | Gujarate, Índia                | Azadiractina                                                                                                                                                                                                                        | Extrato de diclorometano                                 | Kraus et al., 1981                            |
|          | Haiti                          | Desacetilazadiractinol                                                                                                                                                                                                              | Extrato metanólico                                       | Jarvis; Morgan, 2000                          |
|          | Maharashtra, Índia             | 1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ -Epóxi-17 $\beta$ -hidroxiazadiradiona, 1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ -epoxinimolicinol e 7-desacetilnimolicinol juntamente com epoxiazadiradiona, 17 $\beta$ -hidroxiazadiradiona, gedunina, nimbina e nimolicinol | Óleo de semente                                          | Deota et al., 2000                            |
|          | Carachi, Paquistão             | Mahmoodin, azadirachtol e naheedin                                                                                                                                                                                                  | Extrato metanólico                                       | Kubo et al., 1986                             |
|          | Carachi, Paquistão             | Salimuzalina, ácido azadiróllico, azadiradinol e azadironol                                                                                                                                                                         | Extrato etanólico                                        | Hallur et al., 2002                           |
| Fruto    | Carachi, Paquistão             | Limocinone, limocin A, limocin B, limocinol, and limocinin                                                                                                                                                                          | Extrato etanólico                                        | Siddiqui et al., 1992                         |
|          | Carachi, Paquistão             |                                                                                                                                                                                                                                     | Extrato etanólico                                        | Siddiqui et al.,1998                          |
|          |                                |                                                                                                                                                                                                                                     | Extrato etanólico                                        | Siddiqui et al., 1991                         |

Fonte: O autor, 2023.

Folhas de *A. indica* tinham azadiractina e limonóides (IGNACIMUTHU; JAYARAJ, 2005; SCHAAF et al., 2000). A foto-oxidação da nimbina, salanina e azadiractina produz isonimbínolídeos e isosalanínolídeos (JARVIS et al., 1997). A presença de tetranortriterpenóide, meliatetraolenona e um composto denominado odorona foi confirmada por ressonância magnética nuclear nas folhas frescas (SIDDIQUI et al., 2003).

Os óleos essenciais extraídos por hidrodestilação de folhas e flores analisados por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EMS), revelaram a presença de 85,6% de hidrocarbonetos, incluindo  $\gamma$ -elemeno (9,89%), cariofileno (6,8%),  $\beta$ -elemeno (33,39%), germacreno D (9,72%) e biciclogermacreno (5,23%) no óleo das folhas. Os principais compostos detectados nos óleos essenciais de flores e folhas foram  $\beta$ -elemeno,  $\gamma$ -elemeno, germacreno D, cariofileno e biciclogermacreno. O óleo extraído das flores consistia em 63,22% de hidrocarbonetos (pentacosano 18,58%, tetracosano 10,65%,  $\beta$ -germacreno 9,73%,  $\beta$ -cariofileno 5,84% e dodeceno 4,54%) e 28,3% de compostos oxigenados (octadecanol 16,7%, verdiflorol 5,32%, farnesol 1,63% e  $\alpha$ -terpineol 1,51% (EL-HAWARY et al., 2013). O óleo extraído das flores também já revelou possuir cubebene, copaene, humulene,  $\delta$ -cardinene e vários esquiterpenos, que foram responsáveis por atividades antimicrobianas (AROMDEE et al., 2005). A **Figura 3** mostra compostos voláteis antibacterianos importantes obtidos de *A. indica*.

**Figura 3.** Compostos voláteis antibacterianos isolados de diferentes partes de *A. indica*.



**Fonte:** O autor, 2023.

O extrato metanólico das flores apresentou flavonoides prenilados (5,7,4'-trihidroxi-8-prenilflavanona, 5,4'-dihidroxi-7-metoxi-8-prenilflavanona, 5,7,4'-trihidroxi-3',8-diprenilflavanona e 5,7,4'-trihidroxi-3',5'-diprenilflavanona) (NAKAHARA et al., 2002;

NAKAHARA et al., 2003). A extração das flores, como era de se esperar, mostrou apresentam uma grande variedade de compostos como flavonoides (5,7,4'-trihidroxi-8-prenilflavanona, 5,4'-diidroxi-7-metoxi-8-prenilflavanona, 5,7,4'-trihidroxi-3',8-diprenil-flavanona e 5,7,4'-trihidroxi-3',5'-diprenilflavanona, florina e florona) e triterpenóides (O-metilazadironolida e diepoxiazadirol) (SALEEM *et al.*, 2018)

Outros constituintes conhecidos presentes nas flores são triterpenóides (acetato de triquilenona), flavanonas, nimbaflavona, 3'-prenilnaringenina e 4-(2-hidroxietil)fenol (SIDDIQUI et al., 2003). Flores frescas também demonstraram a presença de sesquiterpenos, compostos aromáticos, ácidos graxos, ésteres de ácidos graxos, esteroides, alguns hidrocarbonetos, azharona (5,7,4'-trihidroxi-3'-(3"-metil-2",3"-epoxibutil)flavan-4-ona (3)), azadirona e isoazadironolida (SIDDIQUI et al., 2006, 2009).

Óleos essenciais extraídos de sementes e grãos usando metanol foram analisados por diferentes técnicas cromatográficas revelaram a presença de álcool tetranortriterpênico (GAIKWAD et al., 1990; GOSSÉ et al., 2005; MOMCHILOVA et al., 2007). As sementes possuíam compostos organossulfurados muito voláteis, especialmente o grupo din-propil- e n-propil-1-propenil contendo di-, tri- e tetrasulfetos, conforme examinado usando GC/MS (BALANDRIN et al., 1988; MUBARAK; KULATILLEKE, 1990).

O extrato de sementes e grãos foram analisados em alguns estudos, e vários compostos bioativos foram caracterizados: azadiractina M, azadiractina N, 11-epi-azadiractina H e triterpenóide (1 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -diacetoxypotirucall-14-eno-3 $\alpha$ ,21,22,24,25-pentaol) em conjunto com compostos conhecidos, odorona e 2 $\beta$ ,3 $\beta$ ,4 $\beta$ -trihidroxipregnan-16-ona (LUO et al., 1999, 2000). Uma avaliação fitoquímica anterior de sementes relatou a presença de 11-hidroxi-azadiractina-B, 1-tigloil-3-acetilazadiractinina, 1,2-diacetil-7-tigloil-12-hidroxivilasinina e 23-desmetillimocina-B (KUMAR et al., 1996). Kraus et al. (1981) isolaram 1 $\alpha$ -metoxi-1,2-dihidroepoxiazadiradiona, 1 $\beta$ ,2 $\beta$ -diepoxiazadiradiona, 7-acetilneotrichilenona, desacetil-7-benzoilazadiradiona, 7-desacetil-7-benzoilepoxiazadiradiona e 7-desacetil-7-benzoil-gedunina das sementes.

A presença de *mahmoodin*, *azadirachtol* e *naheedin* no óleo e na casca do fruto da árvore foi descoberta usando NMR e análise química (SIDDIQUI et al., 1992). Mais tarde, o exame do revestimento da fruta usando técnicas espectroscópicas revelou a presença de novos triterpenóides tetracíclicos, como salimuzzalin, ácido azadirólico, azadiradinol e azadironol (SIDDIQUI et al., 1998). Anteriormente, os mesmos pesquisadores confirmaram presença de limocinona, limocina A, limocina B, limocinol, limocinina (SIDDIQUI et al., 1991), isonimolicinolida e ácido nimolicinóico em frutas frescas maduras (SIDDIQUI et al., 1987).

Em outro estudo mostrou que frutas frescas continham azadirona, epoxiazadiradiona e azadiradiona (HALDAR et al., 2013).

Foram extraídos do óleo de frutos e as folhas de *A. indica* triterpenos tetracíclicos, como meliantriol, nimolicinol, nimbocinona, nimocina, azadirachtol e nimocinol (CHOPRA et al., 1956; KRAUS; CRAMER, 1978; NADKARNI, 1976; SIDDIQUI et al., 1986; SIDDIQUI; FAIZI, 1984). A presença de ácido  $\alpha$ -linolênico de folhas frescas da árvore também foi reconhecida (Nair et al., 1997). Suresh et al. (1997) identificaram nimonol extraído de folhas verdes por estudos espectroscópicos COSY e NOESY NMR. Em outro estudo, identificou-se azadirachtina e salanina, que afetam seu sabor amargo da fruta (JOHNSON et al., 1996). Foi revelado que a casca da raiz é constituída por dois novos terpenoides, nimbilina e nimolina (ARA et al., 1989b).

Diversos estudos têm mostrado a presença de diferentes compostos nos extratos das sementes da árvore: azadiractina, nimbidinina, ácido nimbidico, nimbin, nimbolide, tetranortriterpenóides (11-epi-azadiractina H), 11-epi-azadiractina D, nimbanal e salanol-3-acetato e seis novos limonóides (1-benzoil-3-desacetil-1-detigloil, salanina, deacetilazadiractinol, 7-tigloil-12-oxovilasini, azadiralactona e azadirahemiacetal) (DEOTA et al., 2000; JARVIS; MORGAN, 2000; KUMAR et al., 1996; MITRA et al., 1971; BOKEL et al., 1990; RAMJI et al., 1996; 1998; ROJATKAR et al., 1989; WANG et al., 2013; KUBO et al., 1986). O óleo extraído das folhas continha  $\gamma$ -elemeno (20,8%), germacreno-B (20,3%), transcariofileno (13,5%), hexadecanal (12,8%) e linoleato de metila (10,5%) (DASTAN et al., 2009).

Dos óleos extraídos das sementes foram identificados: 1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ -epoxi-17 $\beta$ -hidroxiazadiradiona, 1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ -epoxinimolicinol e 7-desacetilnimolicinol, juntamente com epoxiazadiradiona, 17 $\beta$ -hidroxiazadiradiona, gedunina, nimbina, nimolicinol e salanina (HALLUR et al., 2002; YAMASAKI et al., 1988). Foi estabelecido que a casca da raiz era constituída por diferentes terpenoides, como nimblin e nimolinin, além de outros compostos, como margocina, margocinina, margocilina e nimbidiol (ARA et al., 1989b; 1990; MAJUMDER, 1987). Enquanto a casca do caule continha nimbonone, nimbinone, isonimbinolide, nimbionone, nimbionol e nimbonolone (ARA et al., 1988, 1989a, 1989b; SIDDIQUI et al., 1988). Na investigação da parte interna do tronco da árvore foi revelado a presença de 24-metilenolofenol (BANERJI, 1987).

Os principais componentes químicos extraídos do Nim compõem a classe dos produtos naturais denominados triterpenos, sendo mais específico, os limonóides. Dentre os limonóides, a azadiractina de fórmula molecular  $C_{35}H_{44}O_{16}$  é a mais estudada e mais ativa (OLIVEIRA et

al., 2021). A azadiractina é encontrada em todas as partes da planta, com maior concentração nos frutos, passando por alterações na concentração ao decorrer de seu desenvolvimento, sendo maior quando maduro, pode mostrar diferenças devido ao modo de colheita, da variação de umidade, de iluminação, temperatura e pH (ADEYEMI; MOHAMMED, 2014; KUMAR *et al.*, 2014).

## 2.4 Aspectos sobre a atividade antimicrobiana de *Azadirachta indica*

Foi identificado que o Nim é rico em compostos bioativos como esteróides, açúcares, triterpenóides, alcaloides, açúcares redutores, taninos, flavonoides, lactonas sesquiterpênicas e compostos fenólicos (TESSO *et al.*, 2015; VIJAYARAM *et al.*, 2016). Estes compostos são responsáveis pelas propriedades antibacterianas de quase todas as partes desta árvore (DHAKAL *et al.*, 2016; NEETA; PANKAJ, 2016; SINAGA *et al.*, 2016). Extratos em metanol, acetona e água demonstraram a capacidade de inibir o crescimento de *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Enterobacter spp*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus pyogens* e *S. aureus* (LALL *et al.*, 2013; SALAM *et al.*, 2014; TIRUMALASETTY *et al.*, 2014; VIJAYARAM *et al.*, 2016). Extratos de todas as partes da árvore (metanol e clorofórmio) mostraram propriedades antibacterianas máximas contra *Salmonella* e *Shigella sp.* na concentração de 2 mg/mL (TESSO *et al.*, 2015). Extratos metanólicos de sementes também mostraram atividade antimicrobiana acentuada (SHARMA *et al.*, 2014).

Outro estudo com extrato etanólico da casca focado na avaliação detalhada dos efeitos antibacterianos desta espécie vegetal demonstrou a concentração inibitória mínima e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) foram de 5 e 50 mg, respectivamente, para *Klebsiella ozaenae*, *S. aureus* e *E. coli* (ABALAKA *et al.*, 2012). Extratos etanólicos e aquosos mostraram potencial antibacteriano contra *S. aureus* e *E. coli* (DANGANA *et al.*, 2016). O extrato de folhas dissolvido em dimetilsulfóxido demonstrou potencial antimicrobiano significativo contra *Streptococcus mutans*, *S. aureus* e *Enterococcus faecalis* (MISTRY *et al.*, 2014). O potencial antibacteriano *in vitro* de *A. indica* foi avaliado contra *E. faecalis* com a droga padrão hipoclorito de sódio (5%) /clorexidina (2%), não foi observado nenhuma diferença estatística na atividade antibacteriana de *A. indica* e da droga hipoclorito de sódio/clorexidina (SINHA *et al.*, 2017).

Extratos brutos de sementes e cascas inibiram o crescimento de várias bactérias gram-positivas e gram-negativas (GARG *et al.*, 2015; GUL *et al.*, 2015; ORHUE *et al.*, 2014).

Extratos de sementes, cascas, frutas e folhas foram considerados eficazes contra bactérias bucais (YERIMA et al., 2012). O óleo extraído das sementes exibiu efeito inibitório sobre o crescimento de fungos, bactérias e vírus (SUSMITHA et al., 2013). O extrato etanólico (9%) do óleo da semente apresentou alto potencial antibacteriano contra *E. coli* (TAMBE et al., 2016).

Os extratos de casca e folhas apresentaram atividade antibacteriana significativa, que aumentou com maior concentração; no entanto, extratos de sementes e frutas inibiram o crescimento bacteriano apenas em concentrações mais altas (YERIMA et al., 2012). Além disso, o extrato de flores também mostrou potencial bactericida contra *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* e *Salmonella infantis* (ALZOREKY; NAKAHARA, 2003). Outros estudos também confirmaram os efeitos bactericidas de vários extratos de *A. indica* (GNANKALAI; GOPAP, 2016; SINGH et al., 2016).

Diversos metabólitos secundários (flavonoides, nimbolide, azadiractina, etc) são responsáveis pelo potencial antimicrobiano desta planta (MANACH et al., 2004). Um dos principais antibacterianos presentes nas folhas é o nimbolide, que demonstrou resultados como um antibiótico de amplo espectro para *Bacillus subtilis*, *E. faecalis*, *Staphylococcus epidermis*, *Enterobacter aerogene*, *Enterobacter cloacae* e *Salmonella typhimurium* (FAROOQUI et al., 2014). Foi relatado na literatura que os extratos produzidos por solventes polares demonstram maior atividade antibacteriano do que apolares (RAJASEKARAN, 2008).

Extratos metanólicos de folhas mostraram potencial antibacteriano contra bactérias multirresistentes, *Vibrio cholerae* e *S. aureus* (PANDEY et al., 2014; SINGH et al., 2016). Extratos etanólicos de folhas mostraram eficácia contra *S. aureus* suscetíveis e resistente à meticilina nas concentrações de 25%, 50%, 75% e 100% (SARMIENTO et al., 2011). Dentre os muitos extratos polares e apolares, os extratos metanol e etanólico foram os mais eficazes contra cepas multirresistentes (DAHIYA; PURKAYASTHA, 2012).

Um estudo recente mostrou que a atividade antibacteriana do extrato de folhas frescas foi proeminente contra *E. coli*, *S. aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Foi investigado que extratos de folhas frescas inibiram o crescimento bacteriano de forma mais eficaz do que folhas secas (AZMAN et al., 2016; FRANCINE et al., 2015). O extrato etanólico das folhas mostrou valores Concentração Inibitória Mínima (CIM) mais significativos do que galhos contra *S. aureus* sensível à meticilina, enquanto os valores CIM foram comparáveis no caso de *E. coli* (RAVI et al., 2015). Os valores de CIM do extrato de folhas foram relatados como 6,25 e 12,5 mg/ml para *Proteus mirabilis* e *E. faecalis*, respectivamente (MUHAMMAD et al., 2015). O crescimento de *E. faecalis* pode ser controlado de forma mais eficaz pelo extrato aquoso das

folhas do que hipoclorito de sódio (NaOCl) e antibióticos prescritos (DAMRE, 2015; GONMODE et al., 2013). A combinação de extrato de casca e galhos da árvore apresentou razoável potencial antimicrobiano contra espécies de *S. mutans* e *Lactobacilli* (CHAURASIA, 2016; SUNDARAM et al., 2016).

Vários estudos realizados com extratos metanólicos das folhas de *A. indica* mostraram potencial propriedade antibacteriana contra *Bacillus pumilus*, *S. aureus*, *Candida albicans*, *Staphylococcus epidermidis*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *Proteus morganii*, *E. coli* e *S. typhimurium* (JAGTAP; CHAVAN, 2016; DAS et al, 2014; AJAYI et al., 2016; GADIEN et al., 2015). Assim, pode-se inferir que da literatura discutida acima, vários extratos de diferentes partes de *A. indica* demonstraram seus potenciais antibacterianos contra bactérias gram-positivas, gram-negativas e algumas cepas resistentes.

Os compostos bioativos, como nimbidina, nimbin, azadiractina e meliantrol, que estão presentes na *A. indica*, podem ser responsáveis por suas atividades antimicrobianas e vêm apresentando a capacidade de inibir a colonização e a viabilidade de biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa* (MEHRISHI et al., 2022; KAVERIMANIAN; HEUERTZ, 2019; RAFEY et al., 2021). Esses compostos atuam a partir de vários mecanismos, que inclui: interferir na capacidade da bactéria aderir às superfícies, inibir a síntese de substâncias virulentas e danificar à integridade da membrana celular da bactéria (HEYMAN et al., 2017; BODIBA et al., 2018; SUNTARI et al., 2022). Além do mais, outras pesquisas relatam que *A. indica* também pode atuar contra a resistência aos antibióticos, um dos maiores problemas no tratamento de infecções por *P. aeruginosa*. Isso ocorre visto que alguns compostos de *A. indica* podem atuar em sinergia com antibióticos convencionais, potencializando sua atividade (GARG et., 2014).

## 2.5 Características gerais de *Pseudomonas aeruginosa*

A *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria que pertence à ordem Pseudomonadales, família Pseudomonadaceae e ao gênero *Pseudomonas*, que foi descrita pela primeira vez em 1972 por Schroeter (OZEN et al, 2013). Caracteriza-se como um bacilo Gram negativo, sua membrana externa é formada por proteínas, lipopolissacarídeo e fosfolipídios, é aeróbia estrita que não forma esporos, podendo ser encontrada como célula isolada, aos pares ou em curtas cadeias, apresentando mobilidade através da presença de flagelo polar monotríquio (STARADUMSKYTE, 2014).

Essa bactéria diferencia-se dos demais grupos de microrganismos por ser um patógeno oportunista, de ampla disseminação cosmopolita e por possuir um metabolismo versátil (PEIX

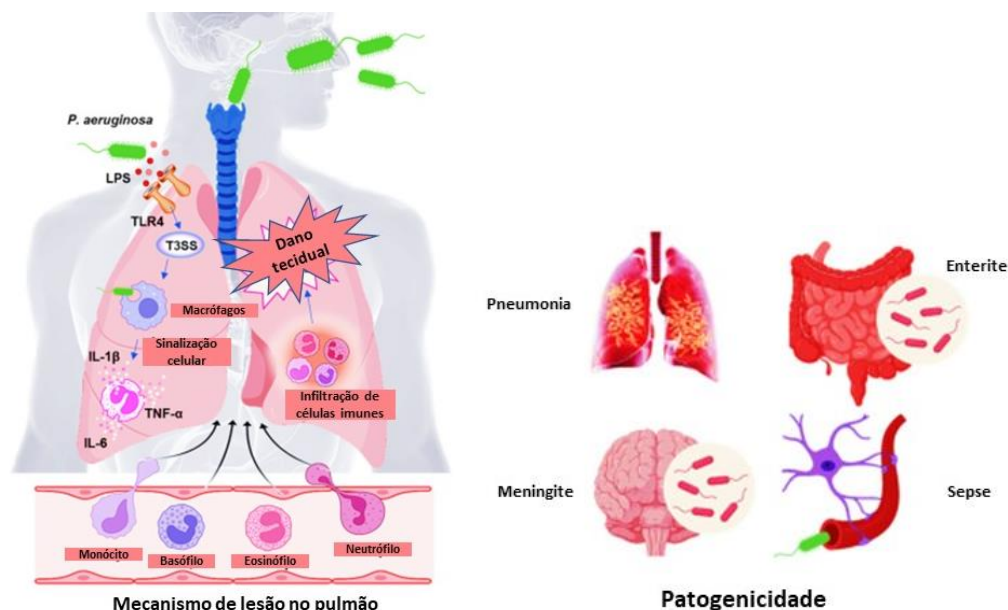
et al., 2009; WHITMAN et al., 2015). Normalmente pode ser encontrada em praticamente todos os lugares; incluindo ambientes hospitalares, em equipamentos que ultrapassam a barreira cutânea-mucosa (BALASUBRAMANIAN et al., 2013). As baixas demandas nutricionais possibilitam seu êxito ecológico e sua capacidade como bactéria oportunista (PEREZ et al., 2011). No estado de biofilme, essa bactéria é capaz de sobreviver em hipóxia ou outros meios excessivamente adversos (SINHA et al., 2021; TANG et al., 2021). A respiração celular da *P. aeruginosa* é caracterizada como aeróbia estrita, ou seja, usa o oxigênio como receptor final de elétrons. Entretanto, em ocasiões excepcionais, o nitrato é utilizado como receptor final alternativo, contribuindo para o crescimento dessa bactéria em condições anaeróbicas (DADDAOUA et al., 2009).

Uma importante maneira de identificar laboratorialmente esta espécie é considerando suas propriedades metabólicas. Essa espécie não é fermentadora de carboidratos, seu metabolismo dos açúcares simples ocorre pela via de Entner-Doudoroff e possui a capacidade de expressar enzimas como citocromo-oxidase, arginina dehidrolase e ornitina descarboxilase (ARAI, 2011; DADDAOUA et al., 2009). Outra característica que também é importante para facilitar a identificação dessa espécie é a síntese de pigmentos fluorescentes, como a piocianina e a pioverdina. A pioverdina é classificada como um sideróforo presente no processo que regula a absorção do ferro e a piocianina atua no mecanismo transportador de elétrons (PEEK et al., 2012; DAS et al., 2013).

## 2.6 Patogenia e fatores patogênicos

A patogenia causada pela infecção de *P. aeruginosa* (**Figura 4**), de forma geral, engloba o começo do processo infeccioso com o comprometimento das defesas imunológicas e os fatores que conduzem ao surgimento de sinais e sintomas da enfermidade no indivíduo, pode ocasionar infecções severas de quase todos os órgãos em indivíduos imunocomprometidos. Diante desses casos, esse microrganismo costuma ser invasivo e citotóxico, usualmente causando lesões teciduais, difusão sistêmica, sepse e eventualmente o óbito (RIEDEL et al., 2022).

**Figura 4.** Esquema da patogênese de *P. aeruginosa*.



**Fonte:** Adaptado de QIN et al., 2022.

A capacidade da *P. aeruginosa* em originar várias formas de infecções deve-se às características patogênicas que esta bactéria possui (VEESENMEYER et al., 2019). Ela é famosa por causar infecções agudas, devido sua produção de toxinas, e infecções crônicas por sua capacidade de produzir uma grossa camada de biofilme, sendo sua patogênese fortemente ligada ao estado de saúde do paciente, acometendo majoritariamente pacientes queimados, com fibrose cística e internados em unidades de tratamento intensivo (UTIs) com sistema imunológico enfraquecido (ALASIL et al, 2015). Infecções de *P. aeruginosa* são de difícil tratamento tendo em vista que este patógeno possui elevados níveis de resistência a diversos antibióticos, levando em conta sua expressão de vários fatores de virulência, que podem ser tanto componentes estruturais quanto secretados, favorecem o sucesso de infecções duradouras (BALASUBRAMANIAM et al, 2013; TOMARAS et al., 2013).

Algumas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* pode ser patógenos multirresistentes (MDR), que causam infecções agudas ou crônicas em indivíduos imunocomprometidos com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), fibrose cística, câncer, traumas, queimaduras, sepse e pneumonia associada à ventilação mecânica (PAV), incluindo aqueles acometidos pela COVID-19 (ROSSI et al., 2021, JURADO- MARTÍN et al., 2021, CENDRA; TORRENTS, 2021). Os tratamentos da infecção por *P. aeruginosa* são extremamente complicados devido às suas rápidas mutações e adaptações para ganhar resistência aos antibióticos (BLOMQUIST; NIX, 2021).

A *Pseudomonas aeruginosa*, um dos principais patógenos causadores de infecções nosocomiais, está amplamente disseminada em equipamentos médicos, pois tende a se desenvolver em superfícies úmidas (JANGRA et al., 2021). É importante ressaltar que *P. aeruginosa* é uma espécie de E.S.K.A.P.E., sigla dos nomes dos principais patógenos multirresistentes: *Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* e *Enterobacter*. A Organização Mundial da Saúde (OMS) identificou *P. aeruginosa* resistente a carbapenem como um patógeno prioritário 1 ou "crítico", e novos tratamentos são urgentemente necessários para enfrentar a iminente crise de saúde pública (TACCONELLI et al., 2018; DAIKOS et al., 2021).

Estudos epidemiológicos demonstram que cerca de 700 mil pessoas falecem de infecções bacterianas resistentes a antibióticos anualmente (BOTELHO et al., 2019). O relatório epidemiológico anual de infecções associadas à assistência à saúde de 2011–2012 relatam que *P. aeruginosa* causou quase 9% das infecções hospitalares, sendo o quarto patógeno mais comum nos hospitais europeus (ECDPC, 2011). Da mesma maneira, 7,1% das infecções hospitalares são causadas por *P. aeruginosa* nos Estados Unidos (MCCARTHY et al., 2017). O relatório epidemiológico do Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças (ECDC) de 2016 informou que *P. aeruginosa* causa uma diversidade de infecções obtidas em UTIs hospitalares, incluindo crises de pneumonia, infecções do trato urinário e da corrente sanguínea (FENG et al., 2017, XIN et al., 2018).

No Brasil, *P. aeruginosa* é um das principais causadoras de infecções nosocomiais, além de ser a bactéria mais prevalente relacionada a pneumonia nosocomial e a terceira em infecção primária da circulação sanguínea em unidades de terapia intensiva (UTI) (WINN et al. 2008). A infecção hospitalar por *P. aeruginosa* continua gerando resistência aos antibióticos comumente eficazes, o que torna não ser apenas um problema local, mas uma das principais ameaças globais para a saúde humana no mundo (HAQUE et al., 2018).

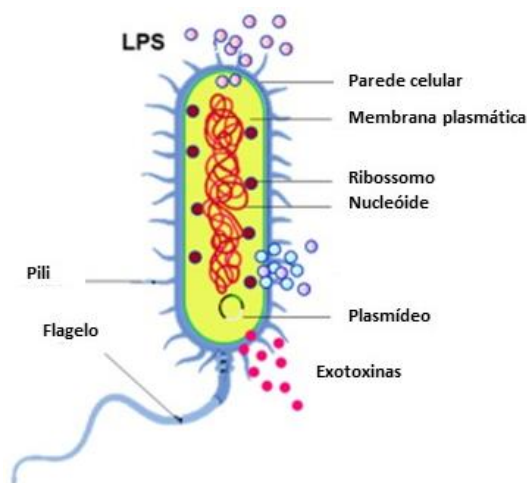
*Pseudomonas aeruginosa* multirresistente (MDR) e extensivamente resistente a medicamentos (XDR) são patógenos nosocomiais comuns, com taxas consideravelmente altas que variam de 11,5% a 24,7% e 9,0% a 11,2%, respectivamente, de acordo com o banco de dados INFORM (RECIO et al., 2020; SADER et al., 2018). A *P. aeruginosa* MDR tem sido vista como uma séria ameaça pelos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) na última década, representando aproximadamente 32.600 casos, 2.700 mortes e 767 milhões de dólares em custos de saúde anualmente (CDC, 2019). Segundo o banco de dados nacional dos Estados Unidos da América, pacientes com *P. aeruginosa* MDR tiveram uma mortalidade maior, cerca de 7 dias a mais de tempo de internação, taxas de readmissão mais altas e um custo

de 20 mil de dólares em excesso por infecção em relação àquelas com infecções não multirresistente (TABAK et al., 2019).

## 2.7 Fatores de virulência

A *P. aeruginosa* detém a capacidade de adaptar-se a meios adversos dos hospedeiros através da secreção de uma diversidade de fatores de virulência, que favorecem para o sucesso da infecção e para o desenvolvimento da patologia (VIDAILLAC et al., 2021).

**Figura 5.** Fatores de virulência da *P. aeruginosa*.



**Fonte:** Adaptado de QIN et al., 2022.

### 2.7.1 Componentes estruturais

#### 2.7.1.1 Pili ou fímbrias

Pili, ou fímbrias, são apêndices parecidos com pelos que se estendem recobrindo a superfície celular de bactérias Gram negativas, agindo como adesinas, contribuindo para a adesão do microrganismo aos receptores do gangliosídeo GM-1, ancorados na superfície das células epiteliais suscetíveis do hospedeiro, iniciando assim a colonização (THANASSI et al, 2012; HARMSSEN et al., 2010; GILTNER, 2010). Esse mecanismo é intermediado pelo pili tipo IV polar (T4P). O T4P são filamentos resistentes, flexíveis, formados por monômeros de pilina, muito finos e longos ( $>1 \mu\text{m}$ ), responsáveis também pela locomoção, formação de microcolônias, biofilmes e incorporação de um novo material genético por conjugação (GILTNER et al., 2012; HEINIGER et al, 2010). A aderência da *P. aeruginosa* às células

hospedeiras é intermediada pela região C-terminal da subunidade estrutural do pili. O receptor celular, que é o gangliosídeo GM-1, contribui para a ligação do pili a células do hospedeiro (GILTNER, 2011).

#### 2.7.1.2 Flagelo

A mobilidade da *P. aeruginosa* se dá devido à presença de flagelo polar monotríquico. Uma estrutura apêndice formada por proteínas de flagelina que variam de 12 até 30 nm de diâmetro. A locomoção apresentada nesta bactéria por meio dessa unidade estrutural é muito essencial para sua adesão e colonização em superfícies no ambiente, assim como em células hospedeiras (SABNIS et al., 2021). O flagelo é dividido em três partes: o corpo basal ancorado à membrana celular (motor rotativo), o gancho (estrutura que transporta a força do motor para o filamento) e o filamento gerador do impulso (MORIMOTO et al., 2014). Esta engrenagem gera energia para a rotação de um filamento helicoidal das subunidades de flagelina que age como uma hélice (AMIEL et al., 2010).

O flagelo é muito imunogênico e sua identificação por glicolipídeos epiteliais é um forte impulso para a expressão de IL-8, uma citocina responsável por recrutar e ativar células polimorfonucleares e macrófagos, além disso, a flagelina age como um padrão molecular associada ao patógeno (PAMP), ativando receptores “*toll like*” (TLR5) e despertando a imunidade inata, que conduz a uma resposta inflamatória protetora que ajuda na erradicação do patógeno (CAMPODÓNICO et al., 2010).

#### 2.7.1.3 Lipopolissacarídeos

A membrana externa de bactérias Gram-negativas é formada por proteínas, fosfolipídios e lipoproteínas, mas têm como o principal constituinte estrutural o lipopolissacarídeos (LPS), uma endotoxina formada de três regiões: lipídeo A, antígeno O ou S e o cerne (MALDONADO et al., 2016). A síntese do lipopolissacarídeo acontece na membrana citoplasmática e, logo após sintetizado, ele é transportado para a superfície celular, fazendo contato com o ambiente externo e receptores celulares. As ligações entre os agrupamentos fosfatos e os oligossacarídeos estabilizam a membrana e permite a produção de um escudo frente moléculas hidrofóbicas (PARK et al., 2022; CHIKU et al., 2013; CHAMBERS et al., 2017).

O LPS é um elemento importante que interfere diretamente na capacidade de virulência da *P. aeruginosa* e na resposta imune do hospedeiro infectado. O LPS é uma molécula muito

tóxica, sendo considerado o principal fator responsável pelas manifestações tóxicas e infecções sistêmicas. O LPS atua como um padrão molecular associado ao patógeno (PAMP) que pode ser um forte ativador da resposta imune inata do hospedeiro, induzindo a produção de respostas inflamatórias dependentes e independentes de TLR-4 após infecção bacteriana, mediante uma cascata de transdução de sinal, células epiteliais secretam citocinas e quimiocinas, recrutando e ativando células imunes inatas e células imunes adaptativas. A ativação excessiva do sistema imunológico, por meio deste mecanismo, pode causar dano tecidual grave, agrava a infecções bacterianas e choque séptico e pôr em risco a vida do indivíduo (HUSZCZYNSKI et al., 2020; LEHMAN; SEGAL, 2020).

#### 2.7.1.4 Alginato

*Pseudomonas aeruginosa* é produtora de uma alta quantia de um polissacarídeo, o alginato, que é formado pelos ácidos D-manurônico e L-gulurônico, ele é indispensável para a sua sobrevivência por ser responsável pela construção de uma matriz polimérica na superfície da bactéria, lhe dando um aspecto mucóide (visível em infecções crônicas, como fibrose cística) e está relacionado a construção de grandes colônias, denominado biofilme (MORADALI et al., 2017). A síntese do alginato possibilita a formação de uma cápsula ao seu redor que impedir a difusão de antimicrobianos, a fagocitose, a opsonização e a morte, favorecendo persistência da estrutura do biofilme no hospedeiro, proporcionando proteção física da bactéria da fagocitose e da ação de antibióticos, prejudicam a depuração bacteriana (OZER et al., 2021; SILVA FILHO et al, 2013).

#### 2.7.1.5 Biofilmes

Os biofilmes são comunidades pluricelulares de bactérias encapsulados extremamente estruturadas, envoltas por uma matriz extracelular sintetizada pelas próprias bactérias que se fixam em superfícies bióticas ou abióticas. Essa matriz é constituída majoritariamente por polissacarídeos, proteínas e DNA extracelular e lipídios que intermedeia a interação entre células e entre célula e superfície (DENGLER, 2015). Essa estrutura fornece os meios favoráveis para a persistência bacteriana, uma vez que cria um proteção ao seu desenvolvimento contra a resposta imune do infectado e contra a terapia antibacteriana, beneficiando a sobrevivência em meios hostis (SHARMA et al., 2013; MAURICE; BEDI; SADIKOT, 2018).

Os biofilmes são normalmente constituídos por água, microrganismos, substâncias

poliméricas extracelulares (EPS) e partículas retidas. A água é a substância mais representativa da massa total do biofilme, entre 80 a 97%. Os microrganismos representam apenas uma pequena parte da massa e do volume total (menos de 10%), contudo, eles produzem as substâncias poliméricas que representam a maior parte da massa seca total (COOPER, 2010).

A formação de biofilme por *Pseudomonas aeruginosa* acontece por fases: na primeira, ocorre a adesão a uma superfície através de seus apêndices, como flagelos e pili; na segunda, as bactérias sofrem alterações fenotípicas, reprimindo a expressão dos apêndices e começa a formação da matriz polissacarídica do biofilme, ficam irreversivelmente fixadas às superfícies; na terceira, elas se desenvolve gradativamente na forma de microcolônias; na quarta, as microcolônias se tornam estruturas tridimensionais parecidas a cogumelos; e na quinta, acontece o desestruturação da microcolônia por meio de autólise, causando a dispersão de células livres, que darão início de um novo ciclo (THI; WIBOWO; REHM, 2020).

#### 2.7.1.6 Enzimas

Dentre os fatores patogênicos extracelulares que permitem a invasividade da *P. aeruginosa*, estão: elastases, protease alcalina, fosfolipase C, neuraminidase e lectina (ANDREJKO et al., 2002). As proteases (elastase e protease alcalina), agem degradar constituintes teciduais (GALDINO et al., 2017). Estas enzimas também podem desativar o sistema complemento, quebrar imunoglobulinas e citocinas, principalmente em indivíduos com fibrose cística (NEMETH et al., 2020). A exotoxina A causa a inibição da síntese proteica em células eucarióticas e possuem potentes efeitos locais e sistêmicos, incluindo necrose de tecidos moles e choque séptico (PAPOFF et al, 2012; OKUDA et al, 2010). A fosfolipase C degrada a membrana citoplasmática; desfazendo o surfactante pulmonar e inativa as opsoninas (OAKE et al., 2022).

A *P. aeruginosa* detém cinco sistemas de secreção de toxinas (I, II, III, V e VI), sendo o tipo III (SST3) é o mecanismo fundamental de patogenicidade, pela produção de exotoxinas como: ExoA, ExoT, ExoS, ExoU e ExoY. Estas toxinas agem causando o aumento da lesão tecidual, cicatrização lenta e severidade da evolução clínica das infecções bacterianas (ANANTHARAJAH, 2017).

#### 2.7.1.7 Pigmentos

A *P. aeruginosa* sintetiza dois pigmentos: a piocianina, que é um composto fluorescente,

de azulado, que atua nas reações de oxidorredução e que é capaz de metabolizar a produção de radicais livres, como hidroxilas e superóxidos, que podem causar dano tecidual (BATEMAN et al., 2017; MARREZ; MOHAMAD, 2020); o outro pigmento é a pioverdina, tida como um sideróforo misto composto por uma cadeia de peptídeos variados e um cromóforo (catecolato) (HANDORE et al., 2022). A *P. aeruginosa* usa a pioverdina como quelante de ferro, atuando na absorção de íons de ferro em situações de baixa concentração, por meio de receptores de membrana externa específicos que controlam a entrada destas moléculas na célula da bactéria (AMMENDOLA et al., 2021).

## 2.8 Antimicrobianos

*P. aeruginosa* demonstra resistência intrínseca a diversos antibióticos e é capaz de adquirir sistemas de resistência suplementares por conta de eventos de mutação ou obtenção de componentes genéticos móveis (MELETIS et al., 2012). Por conta da multirresistência, existe uma quantia limitado de compostos antibacterianos usados na terapia de infecções causadas por *P. aeruginosa*, que inclui neste grupo as cefalosporinas (ceftazidima e cefepima), fluoroquinolonas, monobactâmicos (aztreonam), carbapenêmicos e polimixinas (HORCAJADA et al., 2019).

As cefalosporinas de 4ª geração são um dos únicos antibacterianos eficazes sobre *P. aeruginosa*. Contudo, o aumento de cepas isoladas resistentes a essa classe de antibiótico vem sendo registrada (PACHORI et al., 2019). Os carbapenêmicos, antibióticos de amplo espectro, são usados como fármacos de primeira escolha em casos de infecções por *P. aeruginosa* multirresistentes, e outras bactérias Gram-negativas. O doripenem é um carbapenêmico estável contra muitas  $\beta$ -lactamase (exceto metalo- $\beta$ -lactamase) (NEVES et al., 2011; ANJELINA; AHMAD, 2022).

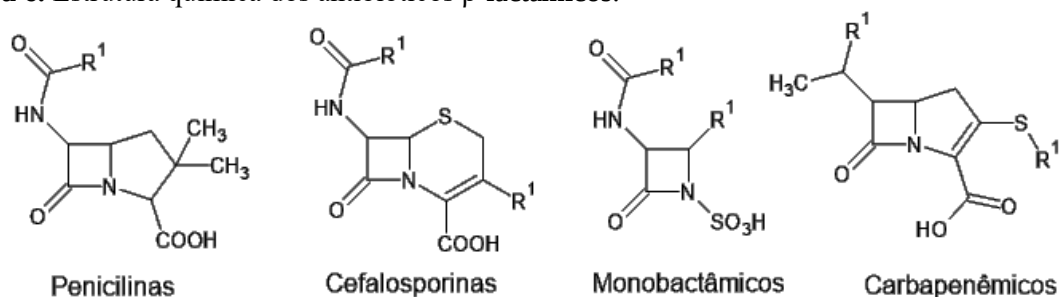
Há um frequente aparecimento e disseminação de *P. aeruginosa* resistente a fluoroquinolonas. Devido sua falta de eficácia contra infecções por bactérias multirresistentes, sua utilização está decaindo (WILLIAMS et al., 2020). A falta de novas opções de antibióticos causou o reaparecimento de antibióticos como última opção no tratamento de infecções bacterianas multirresistentes. A reintrodução de antimicrobianos na última década tem se resumido majoritariamente em polimixinas, mais especificamente em colistina. Onde o benefício para tratar infecções severas por *P. aeruginosa* é superior aos riscos de nefro e neurotoxicidade (LIU; LIU, 2018).

## 2.9 Mecanismos de Resistência em *Pseudomonas aeruginosa*

### 2.9.1 Enzimas $\beta$ -lactamases

Os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos (cefalosporinas, carbapenêmicos, penicilinas e monobactâmicos) (**Figura 5**) compõem o grupo de antimicrobianos com maior número de compostos prescritos, a principal característica deste grupo é a presença de um grupo químico heterocíclico azetidionona denominado anel  $\beta$ -lactâmico, cujo mecanismo de ação é a inibição da síntese da parede celular bacteriana, bloqueando a transpeptidação do composto peptidoglicano (LIMA et al., 2020).

**Figura 6.** Estrutura química dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos.



**Fonte:** O autor, 2023.

As enzimas  $\beta$ -lactamases são capazes de inativar os antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos pelo processo de hidrólise do anel  $\beta$ -lactâmico, quebrando sua ligação amida, de maneira que os produtos produzidos perdem sua atividade antibacteriana (ZALFEI; SCHITO *et al.*, 2022). A hidrólise dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos acontece pela reação de ligação éster entre o sítio ativo de serina (ou íons de zinco, nas metalo- $\beta$ -lactamases) da enzima  $\beta$ -lactamase e o anel  $\beta$ -lactâmico do antibiótico (TOOKE et al., 2019). Em *P. aeruginosa*, essas enzimas se encontram no espaço periplasmático e inativam os  $\beta$ -lactâmicos assim que eles ultrapassam a membrana citoplasmática externa (DIK et al., 2019).

Estas enzimas contribuem para a resistência a muitas outras classes de antibióticos, resultando na limitação de opções terapêuticas. Fármacos considerados inadequados devido à sua alta toxicidade, como polimixinas B, são último o recurso dos clínicos (HORCAJADA et al., 2019). As  $\beta$ -lactamases são geralmente classificadas segundo Ambler (1980) e Bush-Jacoby Medeiros (1995). Ambler classifica as  $\beta$ -lactamases em quatro grupos A, B, C e D segundo a homologia entre as sequências de nucleotídeos e aminoácidos. A segunda classificação é

agrupada em 4 classes 1, 2, 3 e 4, segundo suas propriedades bioquímicas, imunológicas e enzimáticas (AWOSILE, 2017).

### 2.9.2 Bombas de efluxo

Bombas de efluxo são proteínas encontradas na membrana citoplasmática da bactéria que tem a habilidade bombear ativamente compostos tóxicos, como antibióticos, do meio intracelular para fora (ALAV et al., 2018). Uma bomba de efluxo pode possuir afinidade maior por um certo substrato ou pode atuar em uma grande diversidade de antibióticos (bombas de efluxo multidrogas), de maneira que um único mecanismo de efluxo pode reduzir a suscetibilidade da bactéria a uma grande gama de antibióticos (SPINDLER, 2009; MOREIRA et al., 2004).

Uma análise no genoma de *P. aeruginosa* revelou que o mecanismo de efluxo de maior relevância é o da família Resistência Nodulação Divisão (RND), que é expresso predominantemente nessa espécie. Ela possui doze genes para o mecanismo de efluxo RND, desses, quatro são determinantes significativos para a resistência a diferentes antimicrobianos: MexA-MexB-OprM, MexX-MexY-OprM, MexC-MexD-OprJ e MexEMexF-OprN (HOUSSEINI et al., 2018; ROCHA et al., 2019).

Essas bombas são formadas essencialmente por três proteínas-componentes. A primeira componente situa-se na membrana citoplasmática (MexB, MexD, MexF e MexY), que tem a função de bomba, sendo dependente de energia com alta especificidade de substratos; a segunda fica na membrana externa e forma um canal extrusivo (porina) (OprM, OprJ e OprN); e a terceira é uma proteína no periplasma que interliga os outros dois componentes (HENDERSON et al., 2021; OLIVEIRA-TINTINO et al., 2022). A energia usada para bombear pode ser oriunda de trifosfato de adenosina (ATP) ou gradiente eletroquímico de prótons (SPENGLER et al., 2017).

#### 2.9.2.1 Bombas de efluxo MexA-MexB-OprM

Esse sistema elimina  $\beta$ -lactâmicos, cloranfenicol, macrolídeos, novobiocinas, sulfonamidas, tetraciclina, trimetoprimas carbapenêmicos (com exceção ao imipenem), bem como diversos corantes e detergentes (MORITA; TOMIDA, 2013). É o sistema de efluxo mais comum, e sua superprodução causa a resistência às quinolonas, penicilinas e cefalosporinas, podendo também reduzir a sensibilidade ao meropenem (CLÍMACO, 2011). Sua expressão é

regulada negativamente por *mexR*, a mutação altera as funções de regulação levando em superexpressão (RANJITKAR et al, 2019).

#### 2.9.2.2 *MexX-MexY-OprM*

Este sistema *MexXY* é expresso constitutivamente em cepas de *P. aeruginosa* por concentrações subinibitórias de seus substratos, atuando em conjunto com *OprM*, é um determinante relevante para resistência a aminoglicosídeos, apenas nessa bactéria, e também da tetraciclina (LI; PLÈSIAT, 2016). Também é relatado que ele está envolvido na resistência a quinolonas, macrolídeos, cloranfenicol, lincomicina e a maior parte dos  $\beta$ -lactâmicos. Sua superprodução ocorre devido a mutações no repressor *mexZ*, que é responsável por controlar negativamente a expressão (SCOFFONE et al., 2021).

#### 2.9.2.3 *MexC-MexD-OprJ* e *MexE-MexF-OprN*

Os sistemas *MexC-MexD-OprJ* e *MexE-MexF-OprN* estão envolvidos na resistência adquirida induzidas à alguns substratos (PACHORI et al., 2019). Os tipos de substratos do sistema *MexC-MexD-OprJ* contempla  $\beta$ -lactâmicos, fluoroquinolonas, macrolídeos, cloranfenicol, tetraciclina, novobiocina, trimetoprima e outras substâncias (LORUSSO et al., 2022). A expressão de *MexC-MexD-OprJ* é acionada por antimicrobianos catiônicos, sugerindo que acontece em resposta a danificações na membrana bacteriana (MIKALAIUSKAS et al., 2015). Enquanto, o *MexE-MexF-OprN* participa da resistência a quinolonas, cloranfenicol e trimetoprima. A expressão de *MexE-MexF-OprN* é dependente da presença da proteína *MexT*, que age como indutora pós-transcricional (SOUZA et al., 2021).

### 2.9.3 Perda da porina da membrana externa

A membrana citoplasmática externa de *P. aeruginosa*, forma uma barreira com permeável seletiva à entrada e saída de antimicrobianos e outras substâncias. Antibióticos com afinidade por água, como  $\beta$ -lactâmicos, usam canais proteicos inespecíficos de difusão, as porinas, como passagem para dentro da bactéria, enquanto macrolídeos e outros antibióticos lipofílicos entram na bactéria por meio da bicamada lipídica (MASI et al., 2019). O tipo majoritário de porina chamada de *OprF*, possibilita a difusão de espécies iônicas e nutrientes polares, como polissacarídeos de baixo peso molecular. Contudo, não é eficiente para difundir

antibióticos, devido a heterogeneidade na estrutura de seu canal (NOVIK et al., 2010; NAENNA et al., 2010).

Outra porina presente em *P. aeruginosa*, a OprD, tem a função de permitir a travessia de aminoácidos alcalinos e pequenos peptídeos semelhantes estruturalmente com carbapenêmicos, essa porina é específica na difusão de aminoácidos polares positivos. A OprD é um tipo de porina transmembranares estreitas, onde apenas a carbapenêmicos conseguem passar, mas não outros  $\beta$ -lactâmicos (YVER et al., 2017). Inativação por mutações no gene *OprD* foi documentada como responsável por ampliar as CIMs para os carbapenêmicos e pela resistência ao Imipenem e, em menor grau, ao meropenem e ao doripenem (ATRISSI et al., 2021).

A porina OprE, é análoga à OprD, possui como alvo específico as Cefalosporinas, de maneira que sua deficiência beneficia a resistência bacteriana a essa classe de antibióticos (PANG et al., 2019). Porém, em *P. aeruginosa*, a principal porina expressa é a OprF, que possibilita a captação de diferentes substratos (UDE et al., 2021). Certamente, essa é a porina mais usada para captação da maior parte dos  $\beta$ -lactâmicos nas bactérias (IDOWU et al., 2019).

A modificação ou perda de porinas na membrana externa de *P. aeruginosa* pode causar redução na permeabilidade a vários antibióticos, essas alterações em porinas não foi correlacionada a materiais genéticos móveis (UDE et al., 2021). Apesar da ausência de porinas em *P. aeruginosa* conferir resistência intrínseca a muitos antimicrobianos, ela não causa níveis expressivos (DEY et al., 2022). Entretanto, a junção com outros sistemas como a superexpressão de mecanismo de efluxo é relatado por aumentar a resistência dessa bactéria (OLIVEIRA-TINTINO et al., 2022).

#### 2.9.4 Resistência a aminoglicosídeos

A resistência bacteriana aos aminoglicosídeos sendo relatada como um processo de vários fatores, ocorre devido a soma dos diversos mecanismos de resistência (CHRISTAKI et al., 2020). Os mecanismos mais usuais de resistência adquirida são a ação de enzimas que alteram os antibióticos, mecanismo de efluxo ativo e diminuição da permeabilidade da parede celular bacteriana (ABEBE et al., 2016). Pode acontecer, ainda, mudança ribossomal por mutação, que diminui sua atração por antibióticos pela ligação de um metil no sítio-alvo da subunidade 16S do RNA ribossômico, feita por enzimas metilases, que surgiu como um sistema de alto nível de resistência aos aminoglicosídeos da classe das desoxiestreptaminas 4,6-dissubstituídas, como amicacina, tobramicina e gentamicina (HOBSON et al., 2021; NEVES et

al., 2011).

As enzimas que alteram aminoglicosídeos, expressas por genes do plasmídeo, diminuem a especificidade de ligação dos antimicrobianos alterados a alvos na bactéria, a subunidade 30S do ribossomo (MILLER et al., 2022). Os aminoglicosídeos perdem sua atividade enzimaticamente por reações de fosforilação, acetilação e adenilação (PEREZ; CHEN, 2018). As enzimas mais expressas com frequência por *P. aeruginosa* são: AAC(6')-I, que proporciona resistência a tobramicina, netilmicina e amicacina; AAC(6')-II, resistência a gentamicina, tobramicina e netilmicina; AAC(3)I, resistência a gentamicina; AAC(3)-II, com a mesma propriedade de resistência da AAC(6')-II; e ANT(2')-I, resistência a gentamicina e tobramicina (STATEVA; YORDANOV, 2009). Além do mais, o aminoglicosídeo-3'-adenililtransferase proporciona resistência a estreptomicina e espectinomicina (PACHORI et al., 2019).

#### 2.9.5 Resistência a fluoroquinolonas

Os principais sistemas de resistência às fluoroquinolonas em *P. aeruginosa* são baseados em mutações nas enzimas DNAGirase e/ou topoisomerase IV (alvos das fluoroquinolonas), causadas por mutações nos genes que as expressam e que regulam a expressão dos mecanismos de efluxo (PANG et al, 2019). Existe três sistemas relatados de resistência a quinolonas causados por genes de plasmídeos: QepA, uma bomba de efluxo; aminoglisosídeo-N-acetiltransferase, modificador de uma amina secundária nas fluoroquinolonas, reduzindo sua atividade; QnrA, uma proteína que se liga à DNAGirase e/ou topoisomerase IV, impedindo sua ligação com as quinolonas (BAYLAY et al., 2019).

#### 2.9.6 Resistência a polimixinas

As polimixinas são substâncias anfipáticas tensoativas, que podem interagir com os fosfolípídeos das membranas, que modificam sua permeabilidade (KOLOMAZNIK et al., 2017). Logo, a resistência às polimixinas ocorre por mutações que modificam a constituição da membrana bacteriana, por meio de diminuição da quantidade de proteínas específicas na membrana, diminuição de íons de magnésio e cálcio e modificações lipídicas (ZHU et al., 2018).

### 2.10 Classificação de *P. aeruginosa* resistentes a antimicrobianos

A *P. aeruginosa* multirresistente (MDR) mudou nos últimos anos. De acordo com o CDC em 2008, foi definido como não sensíveis a pelo menos um antibiótico em pelo menos três classes para as quais a sensibilidade de *P. aeruginosa* é esperada (penicilinas, cefalosporinas, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos e carbapenêmicos) (SILVA et al., 2021). *P. aeruginosa* extensivamente resistente a medicamentos (XDR) isoladas foram definidas como não sensíveis a pelo menos um agente em todas, exceto duas ou menos classes de antibióticos (MAGIORAKOS et al., 2012).

Definições padronizadas para MDR, XDR e pan-resistente a drogas (PDR) *P. aeruginosa* foram propostas para infecções em 2012, com a atualização incluindo um conjunto de categorias da definição do CDC de 2008 que incluía aztreonam, fosfomicina e polimixinas (MAGIORAKOS et al., 2012). *P. aeruginosa* com resistência difícil de tratar (DTR) foi estabelecida como não sensíveis a todas as seguintes drogas: piperacilina+tazobactam, ceftazidima, cefepima, aztreonam, meropenem, imipenem+cilastatina, ciprofloxacina e levofloxacina (KADRI et al., 2018; TAMMA et al., 2022).

A populações com alto risco para *P. aeruginosa* MDR e XDR incluem aqueles internados na UTI, indivíduos imunocomprometidos, com doença pulmonar crônica e que receberam carbapenem ou fluoroquinolona nos últimos 3 meses (RAMAN et al., 2018). Condições independentes relacionadas à mortalidade em 14 e 30 dias em infectados com *P. aeruginosa* MDR ou XDR incluem aqueles com alto risco (por exemplo, infecções intra-abdominal, de pele e tecidos moles), pneumonia, choque séptico, bacteremia de Pitt e antibioticoterapia inapropriada (EVANS et al., 2019; TORRES et al., 2019; DI PASQUALE et al., 2019).

As estatísticas acima mencionadas demonstram a necessidade da identificação de alvos de desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos eficazes contra *P. aeruginosa* para melhorar a saúde humana. Diversos trabalhos vêm sendo conduzidos e direcionados à busca de novos agentes antimicrobianos originários de extratos vegetais e outros produtos de origem natural, com o intuito de identificar compostos com atividade comparada à dos tradicionalmente usados, mas, com menor toxicidade e impacto ambiental, com maior eficácia contra a microrganismos resistentes (LOPES; CATTELAN, 2022).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

- Avaliar na literatura científica o potencial antibacteriano da espécie *Azadirachta indica* A. Juss. (Nim, Meliaceae) contra *Pseudomonas aeruginosa*.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Identificar a utilização das diferentes partes de *A. indica*;
- Verificar o tipo de solvente mais utilizado para produção dos extratos brutos de *A. indica*;
- Identificar os principais constituintes químicos de *A. indica* relatados nos artigos incluídos na revisão;
- Determinar os métodos de avaliação antibacteriano de *A. indica* contra *P. aeruginosa*;
- Verificar as Concentrações Inibitória e Bactericida Mínima (CIM e CBM) *in vitro* da atividade antibacteriana dos extratos brutos de *A. indica* contra *P. aeruginosa*;

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho de revisão de escopo foi conduzido com base nas recomendações e diretrizes da Cochrane Collaboration e realizado relatado de acordo com os critérios descritos na declaração de itens de relatório preferidos para revisões sistemáticas e meta-análises (PRISMA) (HIGGINS; GREEN, 2011; PAGE et al., 2021). Um conjunto completo de procedimentos foi seguido pelos autores de forma independente antes de chegar ao consenso sobre a estrutura e o conteúdo do artigo (**Figura 5**).

### 4.1 Protocolo

A presente revisão de escopo foi submetida ao registro na base de dados *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO) do *Centre for Reviews and Dissemination* da Universidade de York na Inglaterra sob o número CRD42023387202.

O desenvolvimento da pesquisa de revisão de escopo foi realizado de acordo com algumas etapas: Inicialmente, aconteceu a formulação do protocolo de pesquisa, seguido da elaboração da pergunta norteadora, então foi conduzida a pesquisa dos estudos na literatura, seleção dos estudos, extração dos dados, avaliação dos trabalhos, então foi realizada a coleta e a síntese desses dados, a avaliação qualitativa das evidências relatadas, e finalmente, a discussão desses resultados.

### 4.2 Critérios de elegibilidade

Foi definida a questão norteadora utilizando a estratégia PICO (LIRA, 2019), na qual, representa-se: a população/problema (P) culturas bacterianas de *P. aeruginosa*, a intervenção (I) a administração do extrato bruto de *A. indica*, comparação ou controle (C) grupo controle ou tratados com antibiótico padrão, e por fim, *outcomes* ou resultado (O) a eficácia da utilização do extrato bruto. Dessa forma, o questionamento base delineado será: a utilização dos extratos da espécie *A. indica* é eficaz contra *P. aeruginosa*?

#### 4.2.1 Critérios de inclusão

Os estudos incluídos foram os que possuem indicação de atividade antimicrobiana de *A. indica* por meio de seus extratos brutos (aquoso, etanólicos e metanólicos e misturas

hidroalcoólicas) sobre culturas de bactérias *in vitro* (*P. aeruginosa*);

- Trabalhos completos disponíveis nas bases de dados;
- Artigos originais;
- Escritos na língua portuguesa, espanhola e inglesa.

#### 4.2.2 Critérios de exclusão

Não contemplação do objetivo do trabalho (indicação de atividade antimicrobiana por meio de óleo essencial, compostos isolados, fases e frações enriquecidas, e com formulações feitas a partir do extrato; Pesquisas com misturas com extratos de outras espécies de plantas e seus derivados);

- Artigos duplicados;
- Artigos com quantidade insuficiente de informações (tabela sem dados, etc.);
- Artigos de revisão(narrativa/sistemática), mini revisões;
- Trabalhos indisponível na íntegra;
- *Short communications*;
- Capítulos de livros;
- Literatura cinzenta.

### 4.3 Estratégia de busca

A execução de uma abrangente pesquisa bibliográfica para coletar todas as informações disponíveis sobre o potencial antibacteriano contra *P. aeruginosa* de *A. indica* foi concluída em novembro de 2022. Artigos científicos publicados em revistas foram coletados sem limite temporal usando quatro bancos de dados eletrônicos incluindo: Scopus (<https://www.scopus.com/>), EMBASE (<https://www.embase.com/>), MEDLINE (via PubMed) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) e Web of Science (<http://www.webofscience.com/>), nos quais, foram aplicados critérios de busca explícitos e sistematizados, foram selecionados. Adicionalmente, foram avaliados as listas de referências bibliográficas dos estudos relevantes para identificar outros artigos potencialmente elegíveis.

#### 4.3.2 Seleção dos descritores

Conforme combinação dos componentes da estratégia PICO e operadores booleanos, a partir dos termos/palavras de busca, definiram-se os descritores: (“Azadirachta” [DeCS] OU “Azadirachta” [palavras] E “Pseudomonas aeruginosa” [DeCS] OU “Pseudomonas aeruginosa” [palavras]), para ampliação da busca. A estratégia de busca para o MEDLINE foi a seguinte: ("Azadirachta"[Mesh] OR "Azadirachta"[TIAB]) AND "Pseudomonas aeruginosa"[Mesh] OR "Pseudomonas aeruginosa"[TIAB]).

#### **4.4 Extração de dados**

A elegibilidade dos artigos incluídos foi avaliada de forma sistemática e independente por dois revisores. Qualquer discordância foi resolvida por consenso após discussão com um terceiro avaliador. A extração dos dados foi realizada por um autor-revisor e conferida por outro pesquisador. Utilizaram-se da plataforma *Rayyan* em conjunto com o autor-revisor e os colaboradores.

Todos os trabalhos selecionados foram analisados com base nos parâmetros quanto: ano de publicação, país onde a pesquisa foi realizada, parte utilizada da planta, tipo de extrato obtido, concentração utilizada, controle usado, resultado obtido, mecanismo subjacente por trás da respectiva atividade farmacológica e compostos químicos isolados. Para os estudos farmacológicos, as informações coletadas também incluíram a constituição dos extratos brutos, a concentração e resultados. Os autores também estavam interessados em fitoquímicos individuais específicos extraídos para examinar a atividade farmacológica.

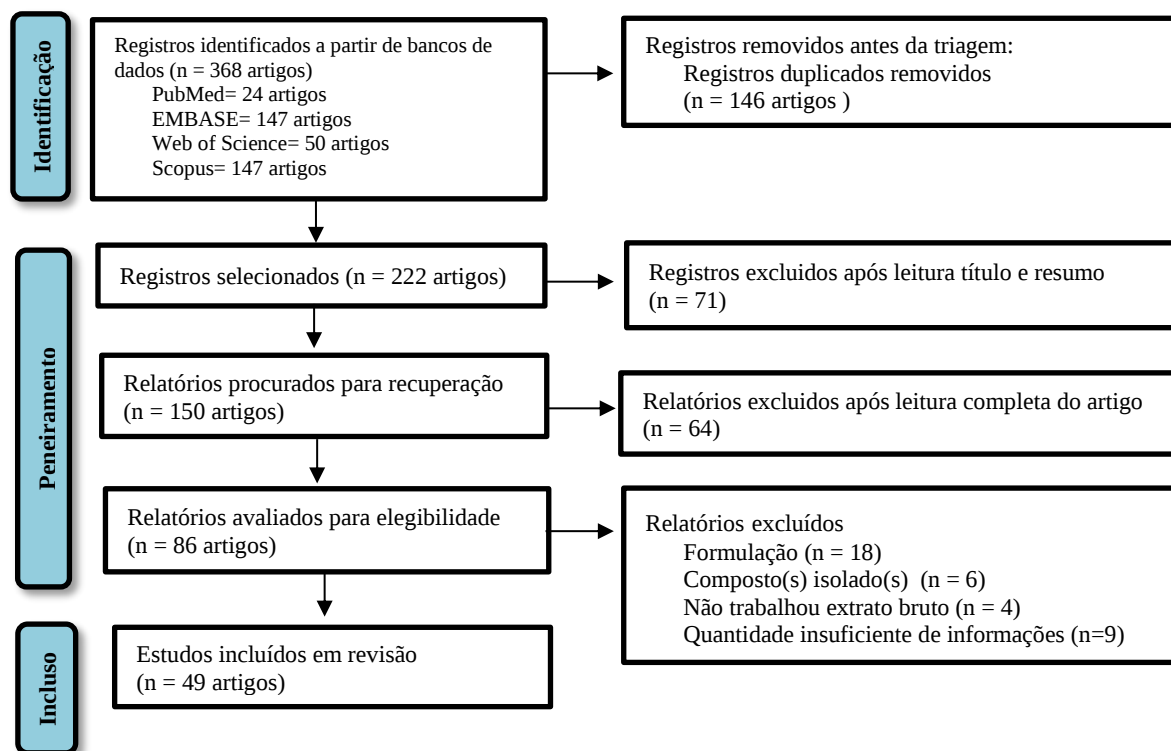
Dois autores avaliaram integralmente os artigos com base nas normas de seleção apresentados anteriormente. A bibliografia foi dividida em diversos segmentos com base no título e resumo disponível, onde duplicatas e estudos com informações não essenciais foram removidos.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para organizar as informações publicadas a respeito do potencial antibacteriano contra *P. aeruginosa* dos extratos da espécie *A. indica*. Na busca inicial, foram identificados 368 relatos de artigos originais completos. No banco de dados PubMed, obteve-se um total de 24 títulos, publicados entre 2006 e 2021. No Web of Science obteve-se um total de 50 resultados (1998-2022). No banco de dados da Embase obteve-se um total de 147 resultados registrados de 2006 a 2020. Na Scopus obteve-se o mesmo valor de 147 resultados (1998-2022).

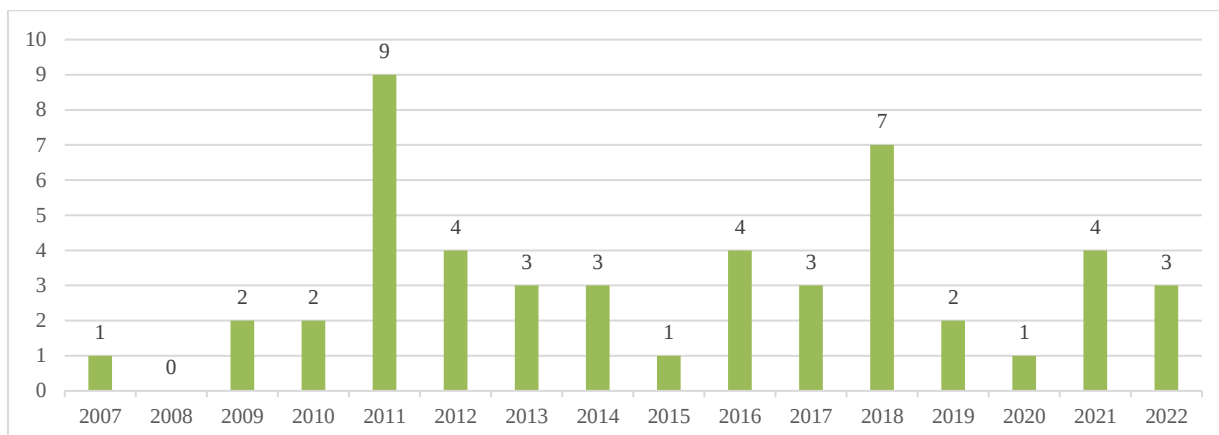
Apesar disso, 146 títulos foram indexados em dois ou mais bancos de dados e foram considerados apenas uma vez, resultando em 222 estudos originais para a análise. Após a leitura de títulos e resumos e avaliação dos critérios de inclusão e exclusão, 86 foram selecionados para leitura de artigo completo. Entre eles, 37 foram excluídos por não atenderem a todos os critérios de inclusão. No total 49 (PubMed: 1, Web of Science: 2, Embase: 27 e Scopus: 19) estudos foram incluídos para extração e processamento de dados. A **Figura 6** mostra um fluxograma que ilustra todo o processo de seleção de estudos usados nesta revisão.

**Figura 7.** Fluxograma de seleção de estudos usados na revisão.



**Fonte:** Adaptado de Page et al. (2021).

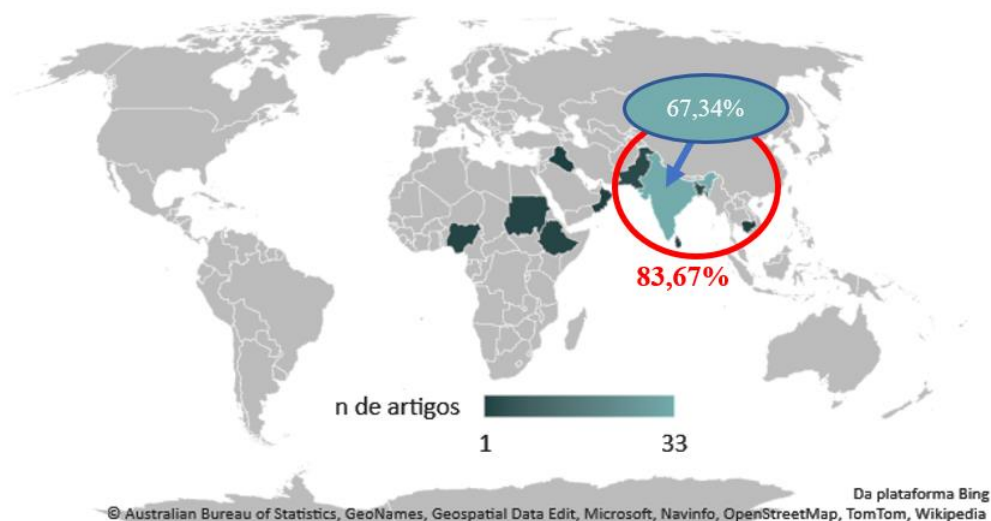
**Figura 8.** Distribuição dos artigos incluídos por ano de publicação.



**Fonte:** O autor, 2023.

Os estudos incluídos foram publicados entre 2007 e de 2022, principalmente nos anos de 2011 e 2018, como é mostrado na **Figura 7**. Todos os artigos incluídos foram analisados categoricamente a respeito do local de coleta do material vegetal, origem do material bacteriológico, ano de publicação, os solventes utilizados para extração, parte da planta utilizada e principais resultados, incluindo informações relevantes sobre os principais componentes dos extratos brutos. Em geral, a maioria das investigações foram de autoria de pesquisadores indianos ( $n=33$ ; 67,34%) e no sudeste asiático e Ásia meridional ( $n=41$ ; 83,67%), como demonstrado na **Figura 8** sobre a distribuição geográfica dos estudos. Devido essa maior prevalência de artigos oriundos da Índia, já se espera uma maior associação entre extratos de *A. indica* da Índia e uma melhor atividade antimicrobiana.

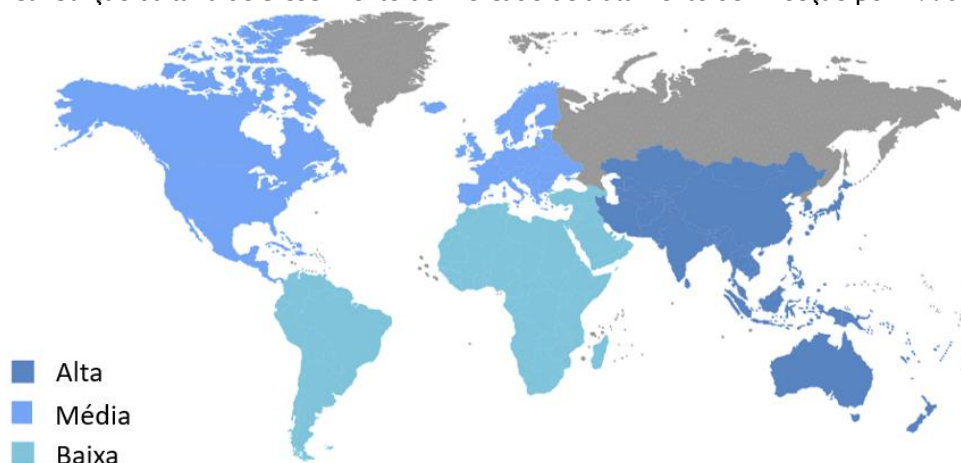
**Figura 9.** Distribuição geográfica dos artigos incluídos por país. Índia (33), Bangladesh (3), Paquistão (3), Sudão (2), Nigéria (2), Etiópia (2), Sri Lanka (1), Iraque (1), Omã (1), Camboja (1).



**Fonte:** O autor, 2023.

Isso aponta para a alta biodiversidade desses locais e o potencial de bioprospecção da flora local. O mapa da **Figura 8** mostra a distribuição dos estudos sobre atividade biológica dos extratos contra *P. aeruginosa* em todo o mundo. Esse mapeamento se sobrepõe à distribuição da taxa de crescimento do mercado de tratamento de infecção por *P. aeruginosa* (**Figura 9**) (MORDOR INTELLIGENCE, 2022). Observou-se também que a prevalência da infecção de *P. aeruginosa* é maior nas zonas destacadas no levantamento deste trabalho, onde sua resistência a antibióticos obteve mais sucesso, ao mesmo tempo que são regiões onde os fatores de socioeconômicos relacionados com o uso racional de antibióticos tendem a afetar especialmente as populações economicamente desfavorecidas. Uma vez que, estas comunidades podem ter dificuldades ao acesso a água limpa, saneamento básico e atendimento médico adequado (RESTREPO; ALIBERTI, 2018).

**Figura 10.** Distribuição da taxa de crescimento do mercado de tratamento de infecção por *P. aeruginosa*



**Fonte:** Adaptado de Mordor Intelligence, 2022.

Dessa forma, essas infraestruturas deficientes podem contribuir para o favorecimento dessa bactéria. Que contribuem significativamente para a carga global de doenças infecciosas, além de impactos econômicos, uma vez que a doença, a incapacidade e a morte afetam a força de trabalho e a produtividade dos indivíduos, além dos custos diretos e indiretos de tratamento dos acometidos (WHO, 2020).

Foi construído um resumo de todos os estudos com observações específicas sobre todas as atividades biológicas na **Tabela 2**. A maioria das pesquisas trabalhou com apenas uma parte da planta, exceto 5 que optaram por utilizar mais de uma, e em uma situação mais de duas.

**Tabela 2.** Origem da amostra vegetal e bacteriana, parte usada para avaliação da atividade antimicrobiana.

| <b>Aquisição da planta</b>                                   | <b>Origem da bactéria</b>                                                    | <b>Parte da planta</b> | <b>Referência</b>           |
|--------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-----------------------------|
| Sangli, Índia                                                | Yashwantrao Chavan College of Science                                        | Folhas                 | Bhinge et al., 2022         |
| Alkamleen, Sudão                                             | Urina de pacientes do East Nile Hospital e Ribat University Hospital,        | Folhas                 | Altayb et al., 2022         |
| Solan, Índia                                                 | SGT Medical College, Hospital and Research Institute, Gurugram<br>ATCC 27853 | Folhas                 | Mehrishi et al., 2022       |
| Abakiliki, Nigéria                                           | Alex Ekwueme Federal University Teaching Hospital Abakiliki,                 | Folhas                 | Okata-Nwali et al., 2021    |
| Addis Ababa, Etiópia                                         | Feridas de pacientes com linfedema de East Wollega Zone                      | Folhas                 | Nigussie et al., 2021       |
| Província do Sul e Ocidental, Sri Lanka                      | ATCC 27853                                                                   | Folhas                 | Wijayawardhana et al., 2021 |
| Manipal, Índia                                               | Infecções de pele e tecidos moles                                            | Folhas                 | Subramanian et al., 2021    |
| Khartoum, Sudão                                              | Omdurman Militar Hospital e Jabir Abulaiz Hospital                           | Folhas                 | Moglad et al., 2019         |
| Khulna, Bangladesh                                           | Jessore University of Science and Technology                                 | Folhas                 | Shamsunnahar et al., 2019   |
| Kirkuk, Iraque                                               | Faculty of industrial science and technology (FIST), Pahang.                 | Folhas                 | Ali et al., 2019            |
| SPM's Rajarshi Shahu College of Pharmacy and Research, Índia | National Chemical Laboratory, Pashan                                         | Folhas                 | Parashar et al., 2018       |
| Mercado, Índia                                               | NI                                                                           | Folhas                 | Mulla et al., 2018          |
| Mercado, Paquistão                                           | Urina e sangue de pacientes                                                  | Folhas<br>Caule        | Muddassir et al., 2018      |
| Vivvan Herbs e Healthcar, Índia                              | National Collection of Industrial Microorganisms (NCIM), Pune.               | Folhas                 | Vora et al., 2018           |
| Chennai, Tamil Nadu, Índia                                   | NI                                                                           | Folhas                 | Senthilkumar et al., 2018   |
| Índia                                                        | MTCC 424                                                                     | NI                     | Supriya et al., 2018        |
| Trivandrum, Índia                                            | Pus de feridas em pacientes infectados                                       | Folhas                 | Rekha et al., 2018          |
| Kalahandi, Índia                                             | Urina de pacientes atendidos e internados em ITU e em hospital               | Folhas                 | Mishra et al., 2017         |
| Índia                                                        | Chandigarh (IMTch)                                                           | Folhas                 | Nety et al., 2017           |
| Dehradun, Índia                                              | Pacientes de ITU atendidos e outros pacientes internados no hospital         | Folhas                 | Jindal et al., 2017         |
| Al-Amerat, Muscat, Sultanato de Omã.                         | Departamento de Ciências Biológicas, Universidade de Nizwa                   | Tronco                 | Al-Jadidi et al., 2016      |
| Tuticorin, Índia                                             | Amostras de urina de pacientes diabéticos                                    | Folhas                 | Subbu Lakshmi et al., 2016  |
| Ibadan, Nigeria                                              | Instituto de Pesquisa e Treinamento Agrícola, Moor Plantation Ibadan         | Folhas                 | Ajayi et al., 2016          |
| Ariyalur, Índia                                              | Annamalai University                                                         | Casca                  | Gnanakalai et al., 2016     |
| Bombaim, Índia                                               | MTCC 1688                                                                    | Folhas                 | Bhuva et al., 2015          |
| Khammam, Índia                                               | NI                                                                           | Folhas                 | Tirumalasetty et al., 2014  |
| Guntur, Índia                                                | Vagdevi College of Pharmacy, Gurazala                                        | Folhas                 | Tirupatirao et al., 2014    |
| Norshindi, Bangladesh                                        | (BTCC-1252) Food Microbiology Division, IFST, Dhaka                          | Folhas                 | Mostafa et al., 2014        |
| Kalahandi, Índia                                             | Sum Hospital, Bhubaneswar, India                                             | Folhas                 | Mishra et al., 2013         |
| Gujarat, Índia                                               | Amostras de leite de mastite clínica e subclínica de búfalas                 | Folhas                 | Patel et al., 2013          |
| Tamil Nadu, Índia                                            | ATCC 27853                                                                   | Folha+Casca            | Samy et al., 2013           |

|                                  |                                                                                 |                |                                |
|----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|----------------|--------------------------------|
| Asella, Etiópia                  | ATCC 27853                                                                      | Raíz           | Kumar et al, 2012              |
| Tribo kandha, Índia              | Hospitalar e comunitária                                                        | Folhas         | Rath et al., 2012              |
| Coimbatore, Índia                | Centro Médico Kovai, Coimbatore, Tamil Nadu.                                    | Folhas         | Narendhirakannan et al., 2012  |
| Swat, Paquistão                  | Pakistan Institute of Medical Sciences (PIMS) Islamabad.                        | Folhas+Semente | Sarwat et al., 2012            |
| Khyber Pakhtoon Khawa, Paquistão | Cepa clínica/PIMS                                                               | Tronco         | Amin et al., 2011              |
|                                  |                                                                                 | Folhas         |                                |
| Índia                            | MTCC 7093                                                                       | Folhas         | Vats et al., 2011              |
| Índia                            | Medical Colleges and Social Welfare Centres of Thanjavur                        | Folhas         | Rekha et al., 2011             |
| Dehradun, Índia                  | NI                                                                              | Folhas         | Grover et al., 2011            |
| Kolli hills, Índia               | ATCC 27853                                                                      | Folhas         | Narayanan et al., 2011         |
| Chennai, Índia                   | ATCC 27853                                                                      | Folhas         | Bakkiyaraj et al., 2011        |
| Thanjavur, Índia                 | Suspeita de pacientes sintomáticos HIV positivos                                | Folhas         | Bharathi et al., 2011          |
| Dhaka, Bangladesh                | NI                                                                              | Folhas         | Abdullah-Al-Emran et al., 2011 |
| Kuravilangad, Índia              | MTCC 741                                                                        | Folhas         | Sharma et al., 2011            |
|                                  |                                                                                 | Tronco         |                                |
|                                  |                                                                                 | Raíz           |                                |
| Noida, Índia                     | NuLife Consultants and Distributors Pvt. Ltd.                                   | Folhas         | Mehrotra et al., 2010          |
| Cuddalore, Índia                 | Isolados de estágios moribundos de <i>Amphiprionsebae</i> e <i>A. ocellaris</i> | Folhas         | Dhayanithi et al., 2010        |
| Mahakoshal, Índia                | Coleção de cultura de germoplasma bacteriano, R. D. University                  | Frutos         | Sharma et al., 2009            |
| Bengala Ocidental, Índia         | ATCC 9027                                                                       | Folhas         | Chattopadhyay et al., 2009     |
| Camboja                          | CIP A22                                                                         | Casca          | Chea et al., 2007              |

**NI:** Não informado.

**Fonte:** O autor, 2023.

Dos estudos incluídos, muitos estudos utilizaram uma ou mais plantas para mais de uma espécie de bactéria, alguns mais de uma cepa da mesma bactéria, isolada ou padronizada, assim como ao contrário, mais de uma bactéria para uma única espécie de planta. Foram utilizadas 33 cepas bacterianas de origem de laboratório ou a partir de isolado de pacientes infectados. Também foi utilizada bactérias padrão (n=13), sendo que a cepa mais utilizada foi ATCC 27853 (n=6). Uma menor parte dos estudos (n=5) não especificou a origem da cepa bacteriana usada.

Um fator que deve ser destacado é que no estudo de Sekiguchi et al. (2005), a cepa ATCC 27853 foi sensível a todos os antibióticos testados (piperacilina, piperacilina-tazobactam, cefotaxima, ceftazidima, cefepima, moxalactam, imipenem, meropenem, aztreonam, amicacina, arbecacina, dibecacina, gentamicina, isepamicina, netilmicina, sisomicina, estreptomicina, tobramicina, tetraciclina, sulfametoxazol-trimetoprima, levofloxacina), porém resistente à cefoxitina, flomoxef e canamicina. Por isso, sua possível preferência na maioria das pesquisas, devido ela ser uma cepa sensível a diversos antibióticos.

No processo de extração, vários solventes e partes da referida espécie foram utilizados para a produção do extrato bruto, alguns utilizaram mais de um tipo de solvente ou mais de uma parte da planta, gerando assim mais de um tipo de extrato por trabalho. Dos 49 artigos incluídos, 34 trabalhavam com apenas 1 tipo de extrato. Os outros 15 trabalharam com mais de um extrato: 11 artigos com mais de 2 tipos de extratos, 3 com 3 tipos extratos e 1 com 6 tipos de extratos diferentes. No total foram produzidos 73 extratos, 31 (42,47%) extratos etanólicos, 23 (31,50%) metanólicos, 18 (24,66%) aquosos e 1 (1,37%) hidroalcólico. Vale destacar que a maior quantidade de extratos foram: 25 (34,24%) etanólicos das folhas, 17 (23,28%) metanólicos das folhas e 13 (17,80%) aquosos das folhas.

A preferência por solventes orgânicos, como o etanol e metanol, deve-se ao fato de que a maioria dos agentes antibacterianos são extraídos de forma mais eficaz por esses solventes do que por extração aquosa (JAIN et al., 2015). Geralmente, o metanol é considerado o melhor solvente em relação a eficácia da extração de um maior número de compostos químicos de plantas. Todavia, por causa da toxicidade do metanol, é sugerido a utilização do etanol para estudos, levando em conta sua eficácia próxima ao do metanol e por demonstrar uma menor toxicidade e custo (BARCELOUX et al., 2002; CAUNII et al., 2012).

Em testes antimicrobianos, é fundamental considerar a influência dos solventes para garantir resultados confiáveis e corretas interpretações, tendo em vista que muitas das vezes eles são usados para suspensos novamente os extratos. A maior parte (40 = 54,79%) dos extratos foram suspenso novamente em DMSO para formar a concentração desejada, porém outros solventes como metanol, etanol e água também foram utilizados. Solventes orgânicos, como

etanol, DMSO (Dimetilsulfóxido) e metanol, podem afetar tanto o crescimento bacteriano quanto a atividade antimicrobiana dos extratos. Primeiramente, esses solventes possuem propriedades antimicrobianas por si só, assim, altas concentrações de solvente podem causar inibição do crescimento bacteriano levar a interpretação erroneamente dos resultados atribuída aos compostos dos extratos (NGUYEN et al., 2020; SUMMMER et al., 2022). Além disso, em alguns casos o uso de solventes orgânicos podem interferir diretamente, aumentando a solubilidade dos compostos bioativos presentes nos extratos, aumentando sua eficácia contra as bactérias testadas. Em outros casos, a presença do solvente pode diminuir a atividade antimicrobiana dos extratos, resultando em resultados falsamente negativos (MURADOR et al., 2019; JHA; SIT, 2022).

Dessa forma, para reduzir essas interferências, é sugerível conduzir um exame comparativo entre os extratos de plantas produzidos com solventes orgânicos e extratos feitos com outros solventes ou métodos de extração, como por exemplo, a infusão em água. Esse método possibilita analisar se a atividade antimicrobiana apresentada é realmente causa pelos compostos encontrados nos extratos ou se é resultante da atividade dos solventes. Também se faz necessário incluir controles apropriados para diferenciar o efeito dos solventes dos efeitos dos compostos dos extratos, conduzir estudos de toxicidade dos solventes em diversas concentrações para definir a faixa de concentração não inibitória do crescimento bacteriano, com o intuito de compreender de fato a atividade antimicrobiana dos extratos.

A maior parte dos extratos foram produzidos utilizando as partes aéreas das plantas (caule, tronco, folhas e frutos), 5 artigos trabalharam com mais de uma parte da planta. Em 77,35% (n=41) foi especificado a utilização das folhas, 2 (3,77%) extratos foram produzidos da raiz, 3 (5,66%) do tronco, 2 (3,77%) da casca, 1 (1,89%) do caule, 1 (1,89%) dos frutos, 1 (1,89%) da mistura da folha com semente, 1 (1,89%) mistura de folha com casca e 1 (1,89%) não especificou a parte utilizada. Destaca-se que diferentes partes da planta podem produzir e/ou armazenar compostos químicos bioativos, podendo ser extraídos da planta inteira ou partes específicas (SIMÕES et al., 2017). O destaque para utilização das folhas pode se dar pela possibilidade de maior concentração de compostos químicos muitas vezes com um efeito bioativo maior (SILVA et al., 2011).

Como demonstrado na **Tabela 3**, dos 49 artigos incluídos, apenas 11 (24,44%) realizaram alguma pesquisa fitoquímica, sendo 9 (18,36%) investigando as principais classes de metabólitos secundários e outros 2 (4,08%) fizeram caracterização fitoquímica dos compostos presentes no extrato, ambos por CG-EM. É possível perceber a maior existência de compostos químicos encontrados nas folhas.

**Tabela 3.** Pesquisa fitoquímica de *A. indica* conduzidas nos artigos incluídos.

|                                                                                            | Extrato                                      | Compostos encontrados                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Autores                       |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| <b>Metabólitos secundários revelados</b>                                                   | EtOH e Aq das folhas                         | Alcaloides, glicosídeos, terpenoides, açúcares reduzidos, saponinas, taninos, flavonoides e esteróides                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Rath et al., 2012             |
|                                                                                            | EtOH, MeOH e Aq das folhas                   | Taninos em todos os extratos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Okata-Nwali et al., 2021      |
|                                                                                            | MeOH e Aq das folhas                         | Alcaloides, terpenoides, saponinas, flavonoides, fenóis, taninos e esteróides                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Nigussie et al., 2021         |
|                                                                                            | MeOH de uma parte da planta não especificada | Compostos fenólicos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Supritha et al., 2018         |
|                                                                                            | EtOH das folhas                              | Alcaloides, saponinas, terpenoides, glicosídeos, flavonoides, esteróis e esteróides, taninos, compostos fenólicos, carboidratos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Rekha et al., 2018            |
|                                                                                            | EtOH das folhas                              | Alcaloides, flavonoides, carboidratos, glicosídeos, saponinas, taninos, fitosterol, triterpenóides, proteínas e aminoácidos, antraquinonas, esteroides, açúcares reduzidos, compostos ácidos, lipídios, flobataninos e resinas                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Narendhirakannan et al., 2012 |
|                                                                                            | MeOH e Aq do tronco                          | Compostos flavonoides e fenóis                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Al-Jadidi et al., 2016        |
|                                                                                            | EtOH das folhas                              | Saponinas, fitosteróis, compostos fenólicos, alcaloides, carboidratos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Bharathi et al., 2011         |
|                                                                                            | MeOH das folhas                              | Resinas, glicosídeos, terpenoides carboidratos, saponinas e esteroides                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Mishra et al., 2017           |
| <b>Caracterização fitoquímica por cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS)</b> | EtOH das folhas                              | 1,5-anidro-2-desoxi-L-arabino-hex-1-enitol; 1, 3-propanodiol, 2-(hidroximetil)-2-nitro-; 3,7,11,15-Tetrametil-2-hexadecen-1-ol; ácido n-hexadecanóico; beta.d-Mannofuranósido, O-geranilo; fitol; 4H-Piran-4-ona, 2,3-di-hidro-3,5-di-hidroxi-6-metil-; Dihidroxiacetona; Benzoofuran, 2,3-dihidro-; 9-Eicosina; açúcares desidro-redutores; 5-hidroximetilfurfural; 1-Dodecanol; ácido 9,12,15-octadecatienoico, (Z,Z,Z)-; Ácido hexadecanóico; éster 2-hidroxi-1-(hidroximetil)etilico; 1,2,3-propanetriol,1-acetato; fitol, acetato; Furano, 2, 5-dimetil-; 2-metoxi-4-vinilfenol; ácido dodeccanóico; 5-Pirimidinol, 2-metil-4-(metiltio)-; 4-Metil-2,5-dimetoxibenzaldeído; 4(H)-Piridina, N-acetil-; Fenol, 2, 6-dimetoxi-; ácido tetradecanóico; ácido octadecanóico; 2, 5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona; Ácido pentanodióico, 3,3-dimetil-,monometiléster; Ácido pentanóico, 4-oxo-; Octadecanal; Ácido hexadecanóico, éster metílico | Altayb et al., 2022           |
|                                                                                            | EtOH da casca                                | Ácido decosanoico,22-trimetilsiloxi-metil éster (1-Benzenossulfonil-1H-pirrol-3-il) ácido acético metil éster; ácido 1-H-pirrol-3-propanoico,2-(etoxicarbomil-(2-oxoetil)-5metil-etil éster; (1-benzenossulfonil-1H-pirrol 3-il ácido acético, éster metílico); 3,5-piridinodicarboxílico ácido, 2-4-6-trimetil-dietil éster.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Gnanakalai et al., 2016       |

**Fonte:** O autor, 2023.

O aumento da incidência de *P. aeruginosa* com resistência impulsiona novos estudos visando a descoberta de novos compostos antibacterianos. Para isso, nos estudos que avaliam a atividade antibacteriana dos extratos de plantas diferentes métodos podem ser usadas, sendo que os mais famosos: método de difusão em ágar por poço, disco-difusão e métodos de macrodiluição e microdiluição, que são feitos em caldo. Os métodos de difusão em ágar ou em caldo são similarmente aceitáveis para mensurar de forma quantitativa a atividade *in vitro* de um agente antibacteriano contra um certo isolado (CLSI, 2008). Para a determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) ou a Concentração Bactericida Mínima (CBM) de extratos de plantas, vem-se usando com mais frequência o método de microdiluição em caldo (OSTROSKY et al., 2008).

O método de disco-difusão em ágar foi utilizado em todos os artigos para avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos, com exceção de Okata-Nwali et al., (2021) que optou por utilizar o método nutriente inclinado. A prevalência do uso do método de disco-difusão ocorre devido a sua relevância sobre atividade antimicrobiana, porque pode ser usado para fazer um *screening* da atividade antimicrobiana dos metabólitos presentes em uma espécie. O método de difusão em ágar é comumente utilizado e sua diversa aplicabilidade decorre da sua simplicidade e baixo custo (AMPARO et al., 2018).

O método disco-difusão é apresentado por diversos autores para examinar o potencial antimicrobiano de extratos de plantas, como Eloff (2019). Contudo, a ausência de padronização desse método, faz necessário a avaliação por um método quantitativo. Ostrosky et al. (2008) alegam haver uma maior confiabilidade do método de microdiluição em caldo para testar agentes antibacterianos, por proporcionar resultados quantitativos e não sofrer influência devido a velocidade de crescimento da colônia de bactérias. Othman et al. (2011) propõe que, a utilização em caldo como em ágar como sendo necessários para obter de resultados com maior confiabilidade sobre a ação antibacteriana de extratos de plantas.

Apesar de usualmente serem usadas as normas internacionalmente conhecidas do Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (CLSI) como base para ensaios de suscetibilidade antimicrobiana, as diretrizes são orientadas para antibacterianos com parâmetros já conhecidos. Existem poucas pesquisas comparativas demonstrando qual seria o melhor método a ser usado para examinar a atividade antimicrobiana de extratos de plantas, mesmo no que se diz respeito aos métodos comumente usados. Além disso, existe a necessidade da padronização dos métodos de extração e testes *in vitro*, para que a pesquisa possa ser mais efetiva, e a interpretação dos resultados seja mais fácil e confiável (SERAFIM et al., 2015).

A ausência de padronização das metodologias causa uma limitação na avaliação da

atividade antibacteriana dos extratos no que tange à comparação de resultados obtidos por diferentes pesquisadores, que avaliam a amostra similares com métodos divergentes. Isso se deve a um caráter multifatorial que pode alterar a inibição *in vitro* de crescimento das bactérias, como o método de produção dos extratos, a cepa da espécie de microrganismo usado, os valores concentração das amostras testadas e do inóculo e a metodologia trabalhada para a aferir a atividade antibacteriana (BONA et al., 2014). Devido às limitações impostas, foi utilizado a interpretação dos resultados e dados descritos por cada autor para determinação qualitativa dos resultados.

Como é possível ver na **Tabela 4** e **5** na maior parte dos extratos (33 = 45,20%) produzidos e testados obtiveram uma ação antibacteriana mediana, demonstrando uma zona de inibição média/intermediária, quando comparada aos antibióticos de uso clínico. Em seguida, 16 (21,92%) extratos demonstraram efeitos acima dos antibióticos padrão e se classificaram como de alta ou excelente atividade antimicrobiana (maior halo de inibição quando comparado ao controle). Em 8 (10,96%) foi demonstrada uma atividade classificada como insatisfatória, muito baixa ou pobre. Em 16 (21,92%) extratos de *A. indica* não demonstraram atividade antibacteriana contra *P. aeruginosa* sob todas as concentrações testadas (OKATA-NWALI et al., 2022; WIJAYAWARDHAMA et al., 2021; SHAMSUNNAHAR et al., 2019; VORA et al., 2018; MOSTAFA et al., 2014; SARWAT et al., 2012; CHEA et al., 2007), vale destacar que desses 16 trabalhos que não apresentaram atividade alguma, 4 foram extratos etanólicos (3 de folhas e 1 de tronco), 6 metanólicos (4 de folhas, 1 de casca e 1 de folhas + semente) 6 aquosos (5 de folhas e 1 de tronco).

**Tabela 4.** Extratos de *A. indica* testados contra *P. aeruginosa* (2007-2022).

| Autores                            | Método                          | Extração           | Resultado (mm) | Concentração                                   | Controle                                                                                                                                | Conclusão dos autores                                                                                                                                     |
|------------------------------------|---------------------------------|--------------------|----------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Bhinge et al., 2022</b>         | Difusão em poço de ágar         | EtOH               | 9,53±0,989     | 50 µL de 5 mg/mL                               | Ciprofloxacina, Cefixima, Cloranfenicol, Ampicilina, Sulfametoxazol, Tetraciclina e Ofloxacina (50 mg)                                  | Em comparação com os antibióticos, o extrato de planta foi menos eficaz.                                                                                  |
| <b>Altayb et al., 2022</b>         | Difusão de disco de Kirby-Bauer | MeOH               | 21±1           | 0,5 mg/mL                                      | 100 µL<br>Ceftazidima (30 mcg), imipenem (10 mcg), gentamicina (10 mcg), cotrimoxazol (25 mcg) e ciprofloxacina (10 mcg).               | O extrato apresentou atividade antimicrobiana contra cepas resistentes a ceftazidima (80%), ciprofloxacina (40%), gentamicina (40%), cotrimoxazol (40%).  |
|                                    |                                 |                    | 19±0,8         | 0,25 mg/mL                                     |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                    |                                 |                    | 17±1,3         | 0,125 mg/mL                                    |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                    |                                 |                    | 16±1,5         | 0,625 mg/mL                                    |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                    |                                 |                    | 13±1,8         | 0,03125 mg/mL                                  |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                    |                                 |                    | NA             | 0,0125 mg/mL                                   |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
| <b>Mehrishi et al., 2022</b>       | Difusão em poço de ágar         | MeOH               | 15,0±1,0       | 50 mg/mL                                       | 50 µL<br>NI                                                                                                                             | O extrato exibiu boa atividade, com zona máxima de inibição (14,1±1,41 e 15±1mm) na concentração de 50mg/ml, para cepas isoladas e ATCC, respectivamente. |
|                                    |                                 |                    | 13,3±1,15      | 25 mg/mL                                       |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                    |                                 |                    | 11,3±0,58      | 12,5 mg/mL                                     |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                    |                                 |                    | 9,7±0,58       | 6,25 mg/mL                                     |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                    |                                 |                    | 14,1±1,41      | 50 mg/mL                                       |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                    |                                 |                    | 12,0±1,41      | 25 mg/mL                                       |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                    |                                 |                    | 10,1±1,52      | 12,5 mg/mL                                     |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                    |                                 |                    | 10,3±1,49      | 6,25 mg/mL                                     |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
| <b>Okata-Nwali et al., 2021</b>    | Ágar nutriente inclinado        | Aq<br>MeOH<br>EtOH | NA             | 0,1 mL de 100; 50; 25 e 12,5 mg/mL             | Um tubo sem antibióticos e sem extrato foi usado como controle positivo.                                                                | Os extratos não tiveram atividade contra <i>P. aeruginosa</i> .                                                                                           |
| <b>Nigussie et al., 2021</b>       | Difusão de disco de Kirby-Bauer | Aq                 | 6,4 ± 0,4      | 100 mg/mL                                      | 100 µL<br>Controle positivo: 5µg cefoxitina, 5µg ciprofloxacina, 10µg penicilina<br>Controle negativo: 5% DMSO                          | O extrato demonstrou ter atividade em alta concentração. No entanto, as concentrações de 100 e 200 mg/mL apresentaram baixa atividade.                    |
|                                    |                                 |                    | 6,8 ± 0,7      | 200 mg/mL                                      |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                    |                                 | MeOH               | 7,8 ± 0,2      | 400 mg/mL                                      |                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
| <b>Wijayawardhana et al., 2021</b> | Difusão em poço de ágar         | Aq<br>EtOH         | NA             | 50µL de 1000; 500; 250; 125; 62,5 e 31,25mg/mL | Controle positivo: gentamicina 0,03% e clotrimazol 1%<br>Controle negativo: DMSO 1%                                                     | Os extratos não demonstraram serem eficazes em nenhuma concentração.                                                                                      |
| <b>Subramanian et al., 2021</b>    | Difusão em poço de ágar         | EtOH               | 9,0            | 100µL de 50; 100 e 200 mg/mL                   | Vancomicina e ceftriaxona (30µg)                                                                                                        | O extrato utilizado mostrou baixa atividade contra <i>P. aeruginosa</i> , indicando seu mecanismo de ação desses produtos na parede celular bacteriana.   |
| <b>Moglad et al., 2019</b>         | Difusão de disco de Kirby-Bauer | EtOH               | 16,64          | 100; 50; 25 e 12,5 mg/mL                       | Tetraciclina e ceftazidima (30µg), cotrimoxazol (25µg), eritromicina (15µg), gentamicina e imipenem (10µg), ciprofloxacina e metacilina | O extrato possui atividade antimicrobiana e o valor MIC foi de 25 mg/mL para <i>P. aeruginosa</i> .                                                       |

|                                   |                         |      |            |                          |                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                           |
|-----------------------------------|-------------------------|------|------------|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (5µg)                             |                         |      |            |                          |                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Shamsun nahar et al., 2019</b> | Difusão em poço de ágar | MeOH | NA         | 50; 100; 200 e 400 mg/mL | Tetraciclina e ácido nalidíxico (30µg), ampicilina (25µg) e eritromicina (15µg)                                                           | O extrato não apresentou efeito sobre <i>P. aeruginosa</i> neste trabalho de pesquisa.                                                                                                                    |
| <b>Ali et al., 2019</b>           | Difusão em poço de ágar | EtOH | 10,33±0,47 | 100 mg/mL                | Usados discos de controle para diferentes solventes.                                                                                      | O extrato aquoso apresentou baixa suscetibilidade antibacteriana comparado ao etanólico, que apresentou atividade moderada, o que pode ser devido à polaridade dos compostos.                             |
|                                   |                         | Aq   | 8.67±0.47  |                          |                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Parashar et al., 2018</b>      | Placa de cilindro       | EtOH | 13,0       | 10 mg/mL                 | Poço em branco foi impregnado com DMSO como controle negativo e poço de cloranfenicol (10, 50, 100mg/mL por poço) como controle positivo. | Os resultados deste estudo experimental mostraram que a eficácia do extrato foi dependente da concentração utilizada, portanto, o aumento da concentração do extrato leva ao aumento da zona de inibição. |
|                                   |                         |      | 17,0       | 50 mg/mL                 |                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                           |
|                                   |                         |      | 20,0       | 100 mg/mL                |                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                           |
|                                   |                         |      |            |                          |                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Mulla et al., 2018</b>         | Método da placa de ágar | Aq   | 6,0        | 700 mg/mL                | NI                                                                                                                                        | O extrato produziu uma zona de inibição satisfatória que mostra sua atividade antimicrobiana suficiente.                                                                                                  |
|                                   |                         |      | 5,0        | 500 mg/mL                |                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                           |
|                                   |                         |      | 3,0        | 700 mg/mL                |                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Muddassir et al., 2018</b>     | Difusão em disco        | EtOH | NA         | 0,5 mg/mL                | Imipenem (5µg)                                                                                                                            | O extrato exibiu atividade bactericida razoável, porém menor em comparação ao controle.                                                                                                                   |
|                                   |                         |      | 7,0        | 1 mg/mL                  |                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Vora et al., 2018</b>          | Difusão em poço de ágar | MeOH | NA         | 50 µL de 10 mg/mL        | Para o controle negativo, um volume igual de metanol (50 µL) foi adicionado em um poço.                                                   | Nenhum dos extratos vegetais apresentou zona de inibição contra <i>P. aeruginosa</i>                                                                                                                      |
| <b>Senthil Kumar et al., 2018</b> | Difusão em poço de ágar | EtOH | NA         | 0,005 mg/mL              | O controle positivo usado foi ciprofloxacina.                                                                                             | Do estudo fica claro que o extrato de Nim possui atividade bactericida contra <i>P. aeruginosa</i> . A atividade antibacteriana aumentou com o aumento da concentração.                                   |
|                                   |                         |      | NA         | 0,001 mg/mL              |                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                           |
|                                   |                         |      | 4,0        | 0,015 mg/mL              |                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                           |
|                                   |                         |      | 6,0        | 0,02 mg/mL               |                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Supritha et al., 2018</b>      | Difusão em poço de ágar | MeOH | 17         | 3mg/mL                   | NI                                                                                                                                        | O extrato vegetal preparado foi eficaz na inibição de <i>Pseudomonas</i> .                                                                                                                                |
| <b>Rekha et al., 2018</b>         | Difusão em poço de ágar | EtOH | 19         | 10 mg/mL                 | Metanol adicionado no poço considerado como controle.                                                                                     | <i>A. indica</i> mostrou boa atividade contra <i>P. aeruginosa</i> . A MIC inibe o crescimento de patógenos bacterianos na concentração de 557,462µg.                                                     |
|                                   |                         |      | 18         | 5 mg/mL                  |                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                           |
|                                   |                         |      | 14         | 2,5 mg/mL                |                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                           |
|                                   |                         |      | 10         | 1,25 mg/mL               |                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                           |

|                                    |                                 |                    |                            |                                       |                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                            |
|------------------------------------|---------------------------------|--------------------|----------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Mishra et al., 2017</b>         | Difusão em poço de ágar         | MeOH               | 15                         | 44,44 mg/mL                           | Gentamicina 30µg/mL como padrão de referência                                                                                  | Extrato de <i>A. indica</i> mostrou um tamanho de zona de inibição moderada contra <i>P. aeruginosa</i> , com MIC de 9,63mg/mL e MBC 21,67mg/mL                                                                            |
| <b>Nety et al., 2017</b>           | Disco-difusão                   | MHAE               | 16,33± 0,42<br>18± 0,44    | 6 mg/mL<br>11 mg/mL                   | Ciprofloxacina 5mcg                                                                                                            | A cepa em estudo se mostrou resistente às concentrações de extrato testadas                                                                                                                                                |
| <b>Jindal et al., 2017</b>         | Difusão em poço de ágar         | EtOH               | 20,31±0,96                 | 100 µL                                | Nitrofurantoína (300 mcg), ampicilina (10mcg), gentamicina (10mcg) e cotrimoxazol (25mcg) foram usados como controle positivo. | O extrato se mostrou com maior atividade antibacteriana que todos os controles.                                                                                                                                            |
| <b>Al-Jadidi et al., 2016</b>      | Disco-difusão                   | MeOH               | 7,00 ± 0,17<br>NA          | 2 mg/mL<br>1; 0,5 e 0,25 mg/mL        | Amoxicilina (3 mg) foi usada como padrão adicionando 3 mL de DMSO.                                                             | O extrato apresentou alguma atividade nas maiores concentrações.                                                                                                                                                           |
|                                    |                                 | Aq                 | 6,00 ± 0,15<br>NA          | 2 mg/mL<br>1; 0,5 e 0,25 mg/mL        |                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>Subbu Lakshmi et al., 2016</b>  | Difusão de disco de Kirby-Bauer | MeOH               | <13,0                      | 50 µL de 20 mg/mL                     | NI                                                                                                                             | O extrato de <i>A. indica</i> inibiu fortemente <i>P. aeruginosa</i> . *                                                                                                                                                   |
| <b>Ajayi et al., 2016</b>          | Difusão em poço de ágar         | EtOH               | 21,5                       | 1mL de 30 mg/mL                       | Gentamicina como controle positivo, concentração não informada.                                                                | Embora <i>A. indica</i> tenha demonstrado uma forte atividade antibacteriana, esta planta não tem potencial para ser considerada um agente antibacteriano eficaz para substituir os antibióticos sintéticos (gentamicina). |
| <b>Gnanakalai et al., 2016</b>     | Disco-difusão                   | EtOH               | 3,0<br>5,0<br>10,0         | 0,05 mg/mL<br>0,1 mg/mL<br>0,15 mg/mL | NI                                                                                                                             | O extrato demonstrou um potencial antibacteriano moderado nas concentrações testadas.                                                                                                                                      |
| <b>Bhuva et al., 2015</b>          | Difusão em poço de ágar         | MeOH<br>EtOH<br>Aq | 13±0,5<br>12±0,5<br>12±0,5 | 50 µL                                 | 50 µL de ciprofloxacina 20 ppm (controle positivo) e 50 µL de DMSO (controle negativo)                                         | Todos os 3 extratos de <i>A. indica</i> foram eficazes na inibição do crescimento in vitro de <i>P. aeruginosa</i> .                                                                                                       |
| <b>Tirumala setty et al., 2014</b> | Difusão em poço de ágar         | EtOH               | 14,0                       | 50 mg/mL                              | 20 µg/mL de amicacina e solução salina como controle negativo                                                                  | O extrato demonstrou potencial antibacteriano moderado.                                                                                                                                                                    |
| <b>Tirupatirao et al., 2014</b>    | Difusão em poço de ágar         | Aq<br>MeOH         | 9,0<br>13,0                | 200 µL                                | Ampicilina controle positivo, concentração não informada.                                                                      | O extrato demonstrou potencial antibacteriano moderado, inferior ao controle positivo.                                                                                                                                     |
| <b>Mostafa et al.,</b>             | Disco-difusão                   | Aq                 | NA                         | 0,5 mg/mL                             | Discos padrão de canamicina (30 µg) e em branco (impregnados com solventes seguidos de                                         | Os extratos de <i>A. indica</i> , mostraram fraca atividade                                                                                                                                                                |

|                                       |                          |                       |          |                                            |                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|---------------------------------------|--------------------------|-----------------------|----------|--------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>2014</b>                           |                          | MeOH                  |          |                                            | evaporação) foram usados como controle positivo e negativo, respectivamente.                                                                            | antibacteriana. *                                                                                                                                         |
| <b>Mishra et al., 2013</b>            | Difusão em poço de ágar  | MeOH                  | 19,0     | 100 mg/mL                                  | Gentamicina 30 mg/mL como padrão                                                                                                                        | O extrato de <i>A. indica</i> apresenta zona de inibição efetiva contra <i>P. aeruginosa</i>                                                              |
| <b>Patel et al., 2013</b>             | Placas de ágar nutritivo | MeOH                  | 9,0      | 0,1 mL                                     | NI                                                                                                                                                      | <i>A. indica</i> apresentou baixa atividade antibacteriana, com concentração inibitória mínima de 9,63mg/mL e concentração bactericida mínima 21,67mg/mL. |
| <b>Samy et al., 2013</b>              | Disco-difusão            | MeOH                  | 14,0     | 0,1 mg/mL                                  | Antibióticos de referência (cloranfenicol 30µg/disco e ceftazidima 30µg/disco), que foram usados como controles positivos.                              | O extrato demonstrou potencial antibacteriano moderado.                                                                                                   |
| <b>Kumar et al., 2012</b>             | Difusão em ágar          | MeOH                  | NA       | 0,5mg/mL                                   | Sulfato de gentamicina 10µg como controle positivo                                                                                                      | O extrato exibiu atividade contra <i>P. aeruginosa</i> de maneira dependente da concentração, com CIM de 0,75gm/mL.                                       |
|                                       |                          |                       | 3,0      | 1 mg/mL                                    |                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                       |                          |                       | 5,0      | 1,5 mg/mL                                  |                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                       |                          |                       | 7,0      | 2 mg/mL                                    |                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                       |                          |                       | 13,0     | 4 mg/mL                                    |                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
| <b>Rath et al., 2012</b>              | Disco-difusão            | EtOH                  | 23,0     | 100 µL de 30 mg/mL                         | Levofloxacina 5µg/mL com tamanho médio de zona de inibição de 20 mm e DMSO 10% sem atividade antibacteriana foram tomados como controles de referência. | Ficou evidente que os extratos aquoso e etanólico de <i>A. indica</i> foram altamente eficazes contra <i>P. aeruginosa</i> .                              |
|                                       |                          | Aq                    | 20,0     |                                            |                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
| <b>Narendhi rakannan et al., 2012</b> | Difusão em poço de ágar  | EtOH                  | 10±0,15  | 0,5 mg/mL                                  | 0,10mL de etanol foi tomado como controle negativo e 10µg de estreptomicina serviu como controle positivo                                               | O extrato demonstrou atividade antimicrobiana eficaz, com CIM de 1,562mg/mL.                                                                              |
|                                       |                          |                       | 12±0,15  | 1 mg/mL                                    |                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                       |                          |                       | 14±0,12  | 1,5 mg/mL                                  |                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                       |                          |                       | 15±0,12  | 2 mg/mL                                    |                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                       |                          |                       | 16±0,17  | 2,5 mg/mL                                  |                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
| <b>Sarwat et al., 2012</b>            | Difusão em poço de ágar  | MeOH                  | NA       | 50µL de 5; 2,5; 1,25; 0,625 e 0,3125 mg/mL | NI                                                                                                                                                      | O extrato em nenhuma concentração produziu uma zona de inibição contra <i>P. aeruginosa</i> .                                                             |
| <b>Amin et al., 2011</b>              | Disco-difusão            | Aq do tronco e folhas | NA       | 20mg/mL                                    | Os antibióticos de referência utilizados foram ciprofloxacina (10µg) e estreptomicina (10µg)                                                            | Apenas o extrato etanólico apresentou uma inibição moderada com CIM e o CBM ficaram com o mesmo valor de 0,78mg/mL.                                       |
|                                       |                          | EtOH do tronco        |          |                                            |                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
|                                       |                          | EtOH folhas           | 9,06±0.5 |                                            |                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                           |
| <b>Vats et al., 2011</b>              | Difusão em poço de ágar  | Aq                    | 12,0     | 150 µL                                     | NI                                                                                                                                                      | O extrato de <i>A. indica</i> também mostrou efeitos antimicrobianos notáveis contra <i>P. aeruginosa</i> .                                               |
| <b>Rekha et al., 2011</b>             | Difusão em poço de ágar  | EtOH                  | 16,0     | 25 µL                                      | NI                                                                                                                                                      | Apresentou uma zona de inibição moderada.                                                                                                                 |
| <b>Grover et</b>                      | Difusão de ágar          | MeOH                  | 14,0     | 0,1 mL                                     | Simultaneamente, a adição dos respectivos                                                                                                               | O extrato de metanol das folhas de                                                                                                                        |

|                                         |                               |           |                                                                      |                                                                          |                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------------------------------|-------------------------------|-----------|----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>al., 2011</b>                        | em copo-placa                 |           |                                                                      |                                                                          |                                               | solventes em vez de extratos foi realizada como controle. Resultados comparados com gentamicina e tetraciclina (100, 40, 20 e 10µg/mL).                                                                                                                                                                                                                            | <i>A. indica</i> é considerado tão eficaz quanto 10µg/mL de gentamicina contra <i>P. aeruginosa</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Narayana n et al., 2011</b>          | Disco-difusão                 | EtOH      | 5,0                                                                  |                                                                          | 0,04 mg/mL                                    | Cotrimoxazole (1,25µg); clindamicina (2µg); ofloxacina, metilicina, ciprofloxacina, rifampicina (5µg); ampicilina, norfloxacina, estreptomicina, gentamicina (10µg); eritromicina (15µg) amoxicilina, amicacina, cefalotina, cloranfenicol, ceftriaxona, ácido nalidíxico, tetraciclina, vancomicina, canamicina, novobiocina (30µg) e penicilina G (10 unidades). | Apresentou uma baixa zona de inibição com CIM de 95±1,1µg/mL para o extrato etanólico e 96±1,5µg/mL para o metanólico.                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>Bakkiyar aj et al., 2011</b>         | Difusão de ágar em copo-placa | MeOH      | 15,0                                                                 |                                                                          | 0,1 mL                                        | Simultaneamente, a adição dos respectivos solventes em vez de extratos foi realizada como controle.                                                                                                                                                                                                                                                                | O extrato metanólico de <i>A. indica</i> exibiu baixa atividade contra <i>P. aeruginosa</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Bharathi et al., 2011</b>            | Difusão em poço de ágar       | EtOH      | 18,0<br>20,0<br>25,0<br>20,0<br>24,0<br>23,0<br>22,0<br>21,0<br>20,0 | 10 µL<br>50 µL<br>100µL<br>25µL<br>50µL<br>100µL<br>25µL<br>30µL<br>40µL | 10mg/<br>10mL<br>10mg/<br>1mL<br>50mg/<br>1mL | Para cada concentração, foram incluídos controles que continham solventes puros em vez dos extratos.                                                                                                                                                                                                                                                               | A atividade antibacteriana do extrato etanólico contra <i>P. aeruginosa</i> mostrou altas zonas de inibição.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>Abdullah -Al- Emran et al., 2011</b> | Disco-difusão                 | EtOH      | 8,0<br>8,0<br>8,0<br>8,0                                             | 50 mg/mL<br>60 mg/mL<br>70 mg/mL<br>100 mg/mL                            |                                               | Ampicilina, cloranfenicol, eritromicina, rifampicina e tetraciclina foram usados como antibióticos de referência.                                                                                                                                                                                                                                                  | Foi encontrado inibição do Extrato etanólico de folha em <i>P. aeruginosa</i> , dependente da concentração.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>Sharma et al., 2011</b>              | Disco-difusão                 | Aq Folhas | 1,2±0,15<br>1,3±0,02<br>1,32±0,07<br>1,8±0,16<br>1,9±0,17<br>NA      | 5%<br>10%<br>15%<br>20%<br>25%<br>5%                                     |                                               | Um disco de papel estéril (6 mm de diâmetro) de Whatman no. 1 papel de filtro, embebido em solvente puro como controle.                                                                                                                                                                                                                                            | Os extratos das diversas partes usadas demonstraram atividade antibacteriana moderada quando comparados com os controles. Extrato aquoso das folhas: MIC de 1,8 e MBC de 1,9; Extrato etanólico das folhas: MIC de 0,9 e MBC de 1,1; Extrato aquoso do tronco: MIC de 2,8 e MBC de 2,9; Extrato etanólico do tronco: MIC de 0,7 e MBC de 0,9; Extrato aquoso das raízes: MIC de 2,5 e MBC de 2,7; Extrato etanólico das raízes: |
|                                         |                               | Aq Tronco | 1,5±0,05<br>1,53±0,09<br>1,7±0,3<br>1,8±0,37<br>1,4±0,43             | 10%<br>15%<br>20%<br>25%<br>5%                                           |                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|                                         |                               | Aq Raíz   | 1,7±0,09<br>1,9±0,15<br>2,0±0,26<br>2,3±0,54                         | 10%<br>15%<br>20%<br>25%                                                 |                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |

|                                   |                         |      |           |                      |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------------------------|-------------------------|------|-----------|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                   |                         |      | NA        | 5%                   |                                                                                                                                                 | MIC de 1,2 e MBC de 1,6.<br>(todos os valores em mg/mL)                                                                                                                                                                                                                 |
|                                   |                         |      | 1,2±0,16  | 10%                  |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                                   |                         |      | 1,31±0,06 | 15%                  |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                                   |                         |      | 1,46±0,17 | 20%                  |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                                   |                         |      | 1,7±0,09  | 25%                  |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                                   |                         |      | 1,3±0,05  | 5%                   |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                                   |                         |      | 1,7±0,14  | 10%                  |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                                   |                         |      | 1,9±0,07  | 15%                  |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                                   |                         |      | 2,3±0,17  | 20%                  |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                                   |                         |      | 2,8±0,09  | 25%                  |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                                   |                         |      | NA        | 5%                   |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                                   |                         |      | 1,2±0,01  | 10%                  |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                                   |                         |      | 1,4±0,19  | 15%                  |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                                   |                         |      | 1,7±0,01  | 20%                  |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                                   |                         |      | 1,9±0,09  | 25%                  |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>Mehrotra et al., 2010</b>      | Difusão em poço de ágar | EtOH | 15,0      | 50 µL de 0,002 mg/mL | Etanol absoluto (50µL/poço) foi usado como controle negativo. Canamicina, vancomicina, tetraciclina e ampicilina (30µg) como controle positivo. | <i>A. indica</i> (Nim) é eficaz contra <i>P. aeruginosa</i> , com potencial de controlar o crescimento do patógeno com valores de MIC de 0,25µg/µL (250mg/mL).                                                                                                          |
| <b>Dhayanit hi et al., 2010</b>   | Disco-difusão           | EtOH | 16,0      | 0,5 mg/mL            | Oxitetraciclina e disco sem carga foram usados como controle positivo e controle negativo, respectivamente.                                     | Os extratos demonstraram atividade antibacteriana satisfatória, o etanólico apresentou boa atividade inibitória com baixa concentração de MIC (125µg/mL <sup>-1</sup> ), enquanto o metanólico obteve um MIC superior (250µg/mL <sup>-1</sup> ), sendo assim, inferior. |
|                                   |                         | MeOH | 16,0      |                      |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>Sharma et al., 2009</b>        | Difusão em poço de ágar | EtOH | 9,0       | 10µL de 50 mg/mL     | Disco embebido em água destilada, etanol e acetona serviu como controle.                                                                        | Ambos extratos demonstraram uma atividade antibacteriana considerável, a ação do extrato aquoso sendo maior que a do etanólico.                                                                                                                                         |
|                                   |                         | Aq   | 13,0      |                      |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>Chattopadhyay et al., 2009</b> | Difusão em poço de ágar | Aq   | 5,0       | 100 µL de 100 mg/mL  | Gentamicina (8µg/mL) foi usada como controle positivo experimental e DMSO 5% como controle negativo.                                            | Os resultados revelaram que <i>P. aeruginosa</i> foi resistente aos extratos aquoso e etanólico de <i>A. indica</i> .                                                                                                                                                   |
|                                   |                         | EtOH | 6,0       |                      |                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>Chea et al., 2007</b>          | Disco-difusão           | MeOH | NA        | 0,2 e 0,4 mg/mL      | Antibiótico de referência e disco em branco com DMSO foram usados, respectivamente, como controles positivos e negativos.                       | O extrato não foi ativo contra <i>P. aeruginosa</i> .                                                                                                                                                                                                                   |

**Aq:** aquoso, **EtOH:** etanol, **MeOH:** metanol, **MHEA:** hidroalcólico, **NA:** não demonstrou atividade, **NI:** não informado.

**Fonte:** O autor, 2023.

**Tabela 5.** Tabulação resumida dos resultados de inibição dos extratos apresentados pelos autores.

| Parte         | Solvente | Resultado do teste |       |                |        | TOTAL |
|---------------|----------|--------------------|-------|----------------|--------|-------|
|               |          | Satisfatório       |       | Insatisfatório |        |       |
|               |          | Alto               | Médio | Baixo          | Nenhum |       |
| Folha         | EtOH     | 9                  | 10    | 3              | 3      | 25    |
|               | MeOH     | 5                  | 5     | 3              | 4      | 17    |
|               | Aq       | 1                  | 5     | 2              | 5      | 13    |
|               | MHAE     |                    | 1     |                |        | 1     |
| Tronco        | EtOH     |                    | 1     |                | 1      | 2     |
|               | MeOH     |                    | 1     |                |        | 1     |
|               | Aq       |                    | 2     |                | 1      | 3     |
| Raiz          | EtOH     |                    | 1     |                |        | 1     |
|               | MeOH     |                    | 1     |                |        | 1     |
|               | Aq       |                    | 1     |                |        | 1     |
| Casca         | EtOH     |                    | 1     |                |        | 1     |
|               | MeOH     |                    |       |                | 1      | 1     |
| Fruto         | EtOH     |                    | 1     |                |        | 1     |
|               | Aq       |                    | 1     |                |        | 1     |
| Caule         | EtOH     |                    | 1     |                |        | 1     |
| Folha+Casca   | MeOH     |                    | 1     |                |        | 1     |
| Folha+Semente | MeOH     |                    |       |                | 1      | 1     |
| NI            | MeOH     | 1                  |       |                |        | 1     |
| TOTAL         |          | 16                 | 33    | 8              | 16     |       |

**Fonte:** O autor, 2023.

Em 2 (4,1%) artigos houve uma discrepância entre o resultado informado pelos autores e os dados apresentados e foram realocados de acordo com seus respectivos resultados de dados e não pela conclusão de seus autores, Subbu Lakshmi et al. (2016) discorre em seu trabalho que o extrato avaliado demonstrou forte atividade, com dados de uma atividade apenas média, já Mostafa et al. (2014), escreve que os extratos demonstraram “atividade fraca”, quando os dados apresentam uma atividade inexistente, em ambos os casos, eles foram destacados com um asterisco (\*) na Tabela 4, na coluna de “Conclusão dos autores”.

Como é possível observar na **Tabela 4**, 16 extratos demonstraram resultados altos de inibição, sendo os extratos etanólicos das folhas os mais ativos com 56,25% (9) de todos os 16 extratos altamente ativos. Os extratos etanólicos das folhas do estudo de Mehrotra et al. (2010) apresentaram os melhores resultados quando comparado com Canamicina, Vancomicina, Tetraciclina e Ampicilina (todas à 30µg), onde 50µL do extrato na concentração de 0,002mg/mL foi capaz de gerar um halo de inibição de 15mm. Também pode-se perceber que a maior parte de todos extratos avaliados (49 = 67,12%) demonstraram resultados satisfatório (união dos extratos com resultado alto + médio), sendo os extratos etanólicos das folhas representando 38,77% (19) dos 49 extratos satisfatórios.

9 trabalhos utilizaram concentrações que não foram possível compreender completamente ou que se diferenciaram-se dos outros trabalhos. Nos trabalhos de Jindal et al. (2019), Bhuva et al. (2015) e Patel et al. (2013) pela descrição do autor dá a entender que o

extrato foi ressuspendido no solvente e aplicado diretamente na placa de ágar, em Grover et al. (2011) e Bakkiyarai et al. (2011) a concentração final não é descrita, Tirupatirao et al. (2014) não apresenta informações sobre a concentração do extrato, Vats et al. (2011) não concentrou o extrato, apenas retirou uma alíquota diretamente do líquido extrator, Rekha et al. (2011) não mostra a de unidade de massa ou de volume usado para preparação da diluição aplicada, por fim, Sharma et al. (2011) não deixa claro se foi feito peso/volume ou volume/volume.

**Tabela 6.** Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos extratos de *A. indica* testados contra *P. aeruginosa* (2007-2022).

| <b>Autores</b>          | <b>Extração</b> | <b>Cepa</b>         | <b>CIM</b>           | <b>CBM</b>        |
|-------------------------|-----------------|---------------------|----------------------|-------------------|
| Mehrishi et al., 2022   | MeOH            | ATCC 27853          | -                    | 6,25 mg/mL        |
|                         |                 | 20 isoladas         | -                    | 6,25 - 3,04 mg/mL |
| Nigussie et al., 2021   | Aq              | ATCC 27853          | 50 mg/mL             | 200 mg/mL         |
|                         | MeOH            | Isolada             | 100 mg/mL            | 200 mg/mL         |
| Rekha et al., 2018      | EtOH            | Isolada             | 0,557462 mg/mL       | -                 |
| Mishra et al., 2017     | MeOH            | Isolada             | 9,63 mg/mL           | 21,67 mg/mL       |
| Ajayi et al., 2016      | EtOH            | Origem desconhecida | 0,27 mg/mL           | 1,12 mg/mL        |
| Mishra et al., 2013     | MeOH            | Origem desconhecida | 9,63 mg/mL           | 21,67 mg/mL       |
| Samy et al., 2013       | MeOH            | ATCC 27853          | 0,03125 mg/mL        | -                 |
| Sarwat et al., 2012     | MeOH            | Isolada             | NA                   | NA                |
| Kumar et al., 2012      | MeOH            | ATCC 27853          | 0,75 mg/mL           | -                 |
| Narayanan et al., 2011  | EtOH            | ATCC 27853          | 0,095 ± 0,0011 mg/mL | -                 |
|                         | MeOH            |                     | 0,096 ± 0,0015 mg/mL | -                 |
| Dhayanithi et al., 2010 | EtOH            | Isolada             | 0,125 mg/mL          | -                 |
|                         | MeOH            |                     | 0,25 mg/mL           | -                 |

**Aq:** aquoso, **EtOH:** etanol, **MeOH:** metanol, **NA:** não demonstrou atividade.

**Fonte:** O autor, 2023.

Na **tabela 6** é mostrado que o CIM variou em torno de 0,03125mg/mL até 100mg/mL (ATCC 27853: 0,03125mg/mL até 50 mg/mL) e CBM variou de 1,12mg/mL até 200mg/mL. Samy et al. (2013) demonstrou os melhores valores de CIM, onde apenas 0,03125 mg/mL foi capaz de inibir a cepa ATCC 27853 de *P. aeruginosa*. Um fato que vale ser destacado, é que Kumar et al. (2012) afirmam que se a concentração desse extrato for aumentada dentro dos limites terapêuticos, pode-se esperar uma maior atividade bactericida. Assim, esta planta é promissora como alternativa à medicina sintética convencional.

Os mecanismos exatos pelos quais os compostos de *A. indica* atuam contra *P. aeruginosa* ainda não são completamente compreendidos. Esses compostos podem agir por diversos mecanismos, incluindo a interferência na adesão bacteriana às superfícies, inibição da produção de enzimas e toxinas virulentas e danos à integridade da membrana celular bacteriana (SADEKUZZAMAN et al., 2015; UPADHYAY et al., 2015; BHAVANIRAMYA et al., 2019).

Dentre algumas possibilidades para atividade antimicrobiana, uma delas pode se dar

devido às diferenças nas estruturas da superfície celular das bactérias Gram negativas. A parede celular das bactérias Gram positivas é uma camada de mureína, enquanto as bactérias Gram negativas possuem uma segunda bicamada lipídica chamada membrana externa. A camada de mureína de bactérias Gram positivas é geralmente muito mais espessa do que a de Gram negativas (ROHDE, 2019). Assim, a membrana de mureína atua como barreira para terpenos, compostos fenólicos e alcaloides agirem contra as bactérias Gram positivas (PUUPPONEN-PIMIÄ et al., 2001; TAVARES et al., 2020).

## 6 CONCLUSÃO

A partir da análise na literatura científica, concluiu-se que os resultados deste estudo indicam que os extratos etanólicos produzidos das folhas de *Azadirachta indica* são mais promissores (dentre todos os extratos testados) contra cepas da bactéria *Pseudomonas aeruginosa*. Sugere-se que a atividade esteja relacionada pelo efeito sinérgico das mais diferentes substâncias químicas presentes no extrato, que abrangem os terpenos, compostos fenólicos e alcaloides. O disco-difusão foi o método mais utilizado para avaliação da atividade antibacteriana, por ser um método clássico e reprodutível na triagem da avaliação da atividade antibacteriana de produtos naturais, utilizando de diferentes concentrações para tal, sendo difícil a avaliação, devido aos diferentes parâmetros utilizados para o mesmo método.

Esta revisão mostra que os extratos brutos da planta demonstram potencial no controle desta bactéria patogênica, favorecendo o desenvolvimento de novos produtos alternativos mais econômicos e acessíveis, combinados em sinergia com antibióticos convencionais, sugere que *A. indica* pode representar uma estratégia eficaz no combate a infecções persistentes causadas por essa bactéria. No entanto, convém sugerir que sejam conduzidos mais testes sobre padronização de concentração, bioatividade, mecanismo de ação, farmacoterapêutica, segurança visando forneçam meios de elaboração de bioprodutos de uso *in vivo* a base de extratos ou compostos isolados de *A. indica* para uso terapêutico.

## REFERÊNCIAS

- ABALAKA, M. *et al.* Antibacterial activities of *Azadirachta indica* against some bacterial pathogens. **Advances in life Sciences**, v. 2, n. 2, p. 5-8, 2012.
- ABEBE, E. *et al.* A review on molecular mechanisms of bacterial resistance to antibiotics. **European Journal of Applied Sciences**, v. 8, n. 5, p. 301-310, 2016.
- ADEYEMI, M. M.; MOHAMMED, M. Prospect of antifeedant secondary metabolites as post harvest material. **International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology**, v. 3, n. 1, p. 8701-8708, 2014.
- ADHIKARI, K. *et al.* Use of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) as a biopesticide in agriculture: A review. **Journal of Agriculture and Applied Biology**, v. 1, n. 2, p. 100-117, 2020.
- AJAYI, F. T. *et al.* Evaluation of fodder plants (*Ficus polita*, *Azadirachta indica* and *Vernonia amygdalina*) for their phytochemical and antibacterial properties. **Cogent Food & Agriculture**, v. 2, n. 1, p. 1211466, 2016.
- AJAYI, F. T. *et al.* Evaluation of fodder plants (*Ficus polita*, *Azadirachta indica* and *Vernonia amygdalina*) for their phytochemical and antibacterial properties. **Cogent Food & Agriculture**, v. 2, n. 1, p. 1211466, 2016.
- AKINYEMI, O. *et al.* Medicinal plants and sustainable human health: a review. *Horticulture International Journal*, v. 2, n. 4, p. 194-195, 2018.
- AL AKEEL, Raid *et al.* Analysis of anti-bacterial and anti oxidative activity of *Azadirachta indica* bark using various solvents extracts. **Saudi journal of biological sciences**, v. 24, n. 1, p. 11-14, 2017.
- ALASIL, S. M. *et al.* Inhibition of quorum sensing-controlled virulence factors and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* by culture extract from novel bacterial species of *Paenibacillus* using a rat model of chronic lung infection. **International journal of bacteriology**, v. 2015, p. 1-16, 2015.
- ALAV, I.; SUTTON, J. M.; RAHMAN, K. M. Role of bacterial efflux pumps in biofilm formation. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. 8, p. 2003-2020, 2018.
- AL-EMRAN, A. *et al.* Evaluation of brine shrimp lethality and antimicrobial activity of *Azadirachta indica* leaf extract on some drug resistance bacteria in Bangladesh. **Pharmacognosy Journal**, v. 3, n. 20, p. 66-71, 2011.
- ALFEI, S.; SCHITO, A. M.  $\beta$ -Lactam Antibiotics and  $\beta$ -Lactamase Enzymes Inhibitors, Part 2: Our Limited Resources. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 4, p. 476, 2022.
- ALI, E. *et al.* Extract of neem (*Azadirachta indica*) leaf exhibits bactericidal effect against multidrug resistant pathogenic bacteria of poultry. **Veterinary medicine and science**, v. 7, n. 5, p. 1921-1927, 2021

ALI, M. J. *et al.* Antibacterial activity for acne treatment through medicinal plants extracts: Novel alternative therapies for acne. **J Pure Appl Microbiol**, v. 13, n. 2, p. 1245-50, 2019.

AL-JADIDI, H. S. K.; HOSSAIN, M. A Determination of the total phenols, flavonoids and antimicrobial activity of the crude extracts from locally grown neem stems. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 6, n. 5, p. 376-379, 2016.

ALTAYB, H. N. *et al.* *In-vitro* and *in-silico* antibacterial activity of *Azadirachta indica* (Neem), methanolic extract, and identification of Beta. d-Mannofuranoside as a promising antibacterial agent. **BMC plant biology**, v. 22, n. 1, p. 1-14, 2022.

ALVES, I. A. B. S. **Estudo farmacognóstico e etnofarmacológico de *Croton cordiifolius* Bail. (Euphorbiaceae)**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2017.

ALZOHAIYRY, M. A. Therapeutics role of *Azadirachta indica* (Neem) and their active constituents in diseases prevention and treatment. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, 2016.

ALZOREKY, N. S.; NAKAHARA, K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. **International journal of food microbiology**, v. 80, n. 3, p. 223-230, 2003.

AMIEL, E. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* evasion of phagocytosis is mediated by loss of swimming motility and is independent of flagellum expression. **Infection and immunity**, v. 78, n. 7, p. 2937-2945, 2010.

AMIN, A. *In vitro* bactericidal and bacteriostatic potential of ingredients of traditional medicine obtained from *Kacha area* (River Indus) district DI Khan, KPK, against human bacterial pathogens. **Pak J Bot**, v. 43, n. 5, p. 26137, 2011.

AMMENDOLA, S. *et al.* *Salmonella typhimurium* and *Pseudomonas aeruginosa* Respond Differently to the Fe Chelator Deferiprone and to Some Novel Deferiprone Derivatives. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 19, p. 10217, 2021.

AMPARO, T. R. *et al.* Métodos para avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de plantas medicinais: a necessidade da padronização. **Infarma**, v. 30, n. 1, p. 50-9, 2018.

ANANTHARAJAH, A. **Contribution to the understanding of *Pseudomonas aeruginosa* virulence in search of innovative therapeutic approaches: Focus on the type III secretion system**, *Secteur des sciences de la santé*. Université catholique de Louvain, Belgium, p. 231, 2017.

ANDREJKO, M; MIZERSKA-DUDKA, M. Effect of *Pseudomonas aeruginosa* elastase B on level and activity of immune proteins/peptides of *Galleria mellonella* hemolymph. **Journal of insect science**, v. 12, n. 1, p. 88, 2012.

ANJELINA, L.; AHMAD, A. Diagnosis and Treatment-Spectrum Beta-Lactamase and Multidrug Resistance Bacterial. **Bioscientia Medicina: Journal of Biomedicine and Translational Research**, v. 6, n. 10, p. 221-2230, 2022.

ARA, I. *et al.* Structurally novel diterpenoid constituents from the stem bark of *Azadirachta*

*indica* (Meliaceae). **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions** 1, n. 2, p. 343-345, 1989<sup>a</sup>

ARA, I. *et al.* Terpenoids from the stem bark of *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 27, n. 6, p. 1801-1804, 1988.

ARA, I. *et al.* Tricyclic diterpenoids from root bark of *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 3, p. 911-914, 1990.

ARA, I. *et al.* Two new terpenoids from root bark of *Azadirachta indica*. **Journal of Natural Products**, v. 52, n. 6, p. 1209-1213, 1989b.

ARA, I. *et al.* Two new terpenoids from root bark of *Azadirachta indica*. **Journal of Natural Products**, v. 52, n. 6, p. 1209-1213, 1989b

ARAI, H. Regulation and function of versatile aerobic and anaerobic respiratory metabolism in *Pseudomonas aeruginosa*. **Frontiers in microbiology**, v. 2, p. 103, 2011.

ARAUJO, B. F *et al.* Clinical and Molecular Epidemiology of Multidrug-Resistant *P. aeruginosa* carrying aac (6')-Ib-cr, qnrS1 and bla SPM Genes in Brazil. **PloS one**:2016, 11(5), e0155914. 17.

AROMDEE, C.; ANORACH, R.; SRIUBOLMAS, N. Essential oil of the flower of *Azadirachta indica* (Meliaceae). In: **III WOCMAP Congress on Medicinal and Aromatic Plants-Volume 5: Quality, Efficacy, Safety, Processing and Trade in Medicinal** 679. 2003. p. 11-14.

ASLAM, B. *et al.* Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. **Infection and drug resistance**, v. 11, p. 1645, 2018.

ATANGWHO, I. J. *et al.* Comparative chemical composition of leaves of some antidiabetic medicinal plants: *Azadirachta indica*, *Vernonia amygdalina* and *Gongronema latifolium*. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 18, 2009.

ATRISSI, J. *et al.* Interplay of OpdP porin and chromosomal carbapenemases in the determination of carbapenem resistance/susceptibility in *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbiology spectrum**, v. 9, n. 2, p. e01186-21, 2021.

ATTRI, M. *et al.* Economics of producing quality seedlings of important agroforestry species with different growing media under shade-net conditions in semi-arid region of Rajasthan. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 9, n. 4S, p. 545-549, 2020.

AWOSILE, B. B. Antimicrobial resistance studies from Atlantic Canada with a focus on extended-spectrum cephalosporin resistance in dairy cattle and humans. 2017.

AZMAN, M. A. *et al.* Phytochemical screening and antibacterial activity of *Azadirachta indica* leaves extract on common skin infection bacteria. **Jurnal Intelek**, v. 11, n. 1, p. 18-23, 2016.

BAKKIYARAJ, S.; PANDIYARAJ, S. Evaluation of potential antimicrobial activity of some medicinal plants against common food-borne pathogenic microorganism. **Int J Pharma Bio Sci**, v. 2, n. 2, p. 484-91, 2011.

BALANDRIN, M. F. *et al.* Biologically active volatile organosulfur compounds from seeds of the neem tree, *Azadirachta indica* (Meliaceae). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 36, n. 5, p. 1048-1054, 1988.

BALASUBRAMANIAN, C. *et al.* Flavanoid from resin glands of *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 34, n. 4, p. 1194-1195, 1993.

BALASUBRAMANIAN, D. *et al.* A dynamic and intricate regulatory network determines *Pseudomonas aeruginosa* virulence. **Nucleic acids research**, v. 41, n. 1, p. 1-20, 2013.

BALASUBRAMANIAN, D. *et al.* A dynamic and intricate regulatory network determines *Pseudomonas aeruginosa* virulence. **Nucleic acids research**, v. 41, n. 1, p. 1-20, 2013.

BANERJI, R. *et al.* Identification of 24-methylenelophenol from heartwood of *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 9, p. 2644-2645, 1987.

BARCELOUX, D. G. *et al.* American Academy of Clinical Toxicology practice guidelines on the treatment of methanol poisoning. **Journal of toxicology: Clinical toxicology**, v. 40, n. 4, p. 415-446, 2002.

BATEMAN, R. M. *et al.* The effect of sepsis on the erythrocyte. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 9, p. 1932, 2017.

BATISTA, F. L. A. *et al.* Antinociceptive activity of ethanolic extract of *Azadirachta indica* A. Juss (Neem, Meliaceae) fruit through opioid, glutamatergic and acid-sensitive ion pathways in adult zebrafish (*Danio rerio*). **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 108, p. 408-416, 2018.

BAYLAY, A. J.; PIDDOCK, L. JV; WEBBER, M. A. Molecular mechanisms of antibiotic resistance—Part I. **Bacterial resistance to antibiotics—from molecules to man**, p. 1-26, 2019.

BHARATHI, B. *et al.* Effect of some medicinal plants on opportunistic bacterial and fungal pathogens associated with HIV. **Asian J Pharm Clin Res**, v. 4, n. 1, p. 149-154, 2011.

BHAVANIRAMYA, S. *et al.* Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. **Grain & oil science and technology**, v. 2, n. 2, p. 49-55, 2019.

BHINGE, S. D. *et al.* Synergistic effects of neem (*Azadirachta indica* L.) leaves extract with conventional antibiotic against gram positive and negative microorganism. **Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 15, n. 2, p. 276-288, 2022.

BHUVA, R. M.; DIXIT, Y. M. Comparative antimicrobial activities of neem and curry leaf extracts and their synergistic effect against selected pathogenic bacteria and fungus. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 6, n. 11, p. 755-759, 2015.

BISWAS, K. *et al.* Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). **Current science**, p. 1336-1345, 2002.

BIU, A. A. *et al.* Acute toxicity study on neem (*Azadirachta indica*, Juss) leaf aqueous extract in chicken (*Gallus gallus domesticus*). **African scientist**, v. 11, n. 4, 2021.

BLOMQUIST, K. C.; NIX, D. E. A critical evaluation of newer  $\beta$ -lactam antibiotics for

treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 55, n. 8, p. 1010-1024, 2021.

BODIBA, D. C. et al. Antibacterial activity of *Azadirachta indica*, *Pongamia pinnata*, *Psidium guajava*, and *Mangifera indica* and their mechanism of action against *Streptococcus mutans*. **Pharmacognosy magazine**, v. 14, n. 53, p. 76, 2018.

BOISON, J. O. et al. Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs. **Chemical Analysis of Non-antimicrobial Veterinary Drug Residues in Food**, p. 427-496, 2016.

BOKEL, M. et al. Tetranortriterpenoids related to nimbin and nimbolide from *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae). **Tetrahedron**, v. 46, n. 3, p. 775-782, 1990.

BONA, E. A. M. et al. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, p. 218-225, 2014.

BOTELHO, J. et al. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*—Mechanisms, epidemiology and evolution. **Drug Resistance Updates**, v. 44, p. 100640, 2019.

CAMPODÓNICO, V. L. et al. Evaluation of flagella and flagellin of *Pseudomonas aeruginosa* as vaccines. **Infection and immunity**, v. 78, n. 2, p. 746-755, 2010.

CAUNII, A. et al. Design of optimal solvent for extraction of bioactive ingredients from six varieties of *Medicago sativa*. **Chemistry Central Journal**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2012.

CAVALCANTI, F. L. D. S et al. Mutational and acquired carbapenem resistance mechanisms in multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Recife, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**: 2015, 110(8), 1003- 1009.

CDC. **Antibiotic resistance threats in the United States**. Atlanta: CDC; 2019.

CECHINEL FILHO, V.; ZANCHETT, C. C. C. **Fitoterapia Avançada: Uma Abordagem Química, Biológica e Nutricional**. Artmed Editora, 2020.

CENDRA, M. D. M.; TORRENTS, E. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms and their partners in crime. **Biotechnology advances**, v. 49, p. 107734, 2021.

CHAKRABORTTY, T. et al. Evaluation of *Azadirachta indica* leaf extract for hypoglycaemic activity in rats. **Phytotherapy Research**, v. 3, n. 1, p. 30-32, 1989.

CHAMBERS, J. R. et al. Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* dispersed cells to antimicrobial agents is dependent on the dispersion cue and class of the antimicrobial agent used. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 61, n. 12, p. e00846-17, 2017.

CHATTOPADHYAY, R. R. et al. A comparative evaluation of antibacterial potential of some plants used in Indian traditional medicine for the treatment of microbial infections. **Brazilian archives of Biology and Technology**, v. 52, p. 1123-1128, 2009.

CHAURASIA, A. Neem in oral diseases—An update. **Journal of Oral Medicine, Oral Surgery, Oral Pathology and Oral Radiology**, v. 2, n. 1, p. 1-3, 2016.

CHEA, A. *et al.* *In vitro* antimicrobial activity of plants used in Cambodian traditional medicine. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 35, n. 05, p. 867-873, 2007.

CHIKU, K. *et al.* Defects in D-rhamnosyl residue biosynthetic genes affect lipopolysaccharide structure, motility, and cell-surface hydrophobicity in *Pseudomonas syringae* pathovar glycinea race 4. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, p. 120736, 2013.

CHOFFNES, D. **Nature's pharmacopeia: A world of medicinal plants**. Columbia University Press, 2016.

CHOPRA, R. N. *et al.* **Glossary of Indian medicinal plants**. New Delhi, India: CSI,. pp. 31–32, 1956.

CHRISTAKI, E.; MARCOU, M.; TOFARIDES, A. Antimicrobial resistance in bacteria: mechanisms, evolution, and persistence. **Journal of molecular evolution**, v. 88, p. 26-40, 2020.

CLÍMACO, E. C. **Análise molecular de mecanismos determinantes de resistência a antibióticos em *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp.** Ribeirão Preto. Tese [Doutorado em Ciências] - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; 2011.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals**. Norma aprovada 3ª ed. Wayne, PA, CLSI document M31-A3, 2008.

COOPER, R. Biofilms and wounds: much ado about nothing. **Wounds uk**, v. 6, n. 4, p. 84-90, 2010.

CULLEN, J. K. *et al.* Topical treatments for skin cancer. **Advanced drug delivery reviews**, v. 153, p. 54-64, 2020.

DA SILVA, P. B. *et al.* Highlights regarding the use of metallic nanoparticles against pathogens considered a priority by the world health organization. **Current medicinal chemistry**, v. 28, n. 10, p. 1906-1956, 2021.

DADDAOUA, A.; KRELL, T.; RAMOS, J. L. Regulation of glucose metabolism in *Pseudomonas*: the phosphorylative branch and Entner-Doudoroff enzymes are regulated by a repressor containing a sugar isomerase domain. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 32, p. 21360-21368, 2009.

DADGOSTAR, P. Antimicrobial resistance: implications and costs. **Infection and drug resistance**, v. 12, p. 3903, 2019.

DAHIYA, P.; PURKAYASTHA, S. Phytochemical screening and antimicrobial activity of some medicinal plants against multi-drug resistant bacteria from clinical isolates. **Indian journal of pharmaceutical sciences**, v. 74, n. 5, p. 443, 2012.

DAIKOS, G. L. *et al.* Review of ceftazidime-avibactam for the treatment of infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. **Antibiotics**, v. 10, n. 9, p. 1126, 2021.

DAMRE, P. G. Comparative evaluation of antibacterial activity of herbal vs chemical root canal against *E. faecalis*: An in vitro study. **International Journal of Advanced Research**, v. 3, p. 1563–1572, 2015.

DANGANA, A. *et al.* Preliminary evaluation of antibacterial potential of four common Nigerian plants against isolates of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **NY Sci J**, v. 9, p. 66-71, 2016.

DAS, S. *et al.* Enhanced antibacterial potential of ethanolic extracts of neem leaf (*Azadirachta indica* A. Juss.) upon combination with bacteriocin. **Int J Curr Microbiol Appl Sci**, v. 3, p. 617-621, 2014.

DAS, T. *et al.* Pyocyanin facilitates extracellular DNA binding to *Pseudomonas aeruginosa* influencing cell surface properties and aggregation. **PloS one**, v. 8, n. 3, p. e58299, 2013.

DASTAN, D. *et al.* Essential oil compositions of the leaves of *Azadirachta indica* A. Juss from Iran. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 13, n. 3, p. 357-361, 2010.

DENGLER, V. *et al.* An electrostatic net model for the role of extracellular DNA in biofilm formation by *Staphylococcus aureus*. **Journal of bacteriology**, v. 197, n. 24, p. 3779-3787, 2015.

DEOTA, P. T. *et al.* Estimation and isolation of azadirachtin-A from neem [*Azadirachta indica* A. JUSS] seed kernels using high performance liquid chromatography. 2000.

DEVEREAUX, A. L. *et al.* DARK classics in chemical neuroscience: Morphine. **ACS chemical neuroscience**, v. 9, n. 10, p. 2395-2407, 2018.

DEY, N. *et al.* Role of nanomaterials in deactivating multiple drug resistance efflux pumps—A review. **Environmental Research**, v. 204, p. 111968, 2022.

DHAKAL, S. *et al.* Phytochemical and antioxidant studies of methanol and chloroform extract from leaves of *Azadirachta indica* A. Juss. in Tropical region of Nepal. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v. 8, n. 12, p. 203-208, 2016.

DHAYANITHI, N. B. *et al.* Effect of neem extract against the bacteria isolated from marine fish. **Journal of Environmental Biology**, v. 31, n. 4, p. 409-412, 2010.

DI PASQUALE, M. F. *et al.* Prevalence and etiology of community-acquired pneumonia in immunocompromised patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 68, n. 9, p. 1482-1493, 2019.

DIK, D. A. *et al.* Slt, MltD, and MltG of *Pseudomonas aeruginosa* as targets of Bulgecin A in potentiation of  $\beta$ -lactam antibiotics. **ACS chemical biology**, v. 14, n. 2, p. 296-303, 2019.

DOI, Y. *et al.* Coproduction of novel 16S rRNA methylase RmtD and metallo- $\beta$ -lactamase SPM-1 in a panresistant *Pseudomonas aeruginosa* isolate from Brazil. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 51, n. 3, p. 852-856, 2007.

DUBEY, S.; KASHYAP, P. *Azadirachta indica*: A plant with versatile potential. **RGUHS J Pharm Sci**, v. 4, n. 2, p. 39-46, 2014.

ECDPC. **European Centre for Disease Prevention and Control publishes Annual**

**epidemiological report 2011.** Euro. Surveill. 16, 20012 (2011).

EL-HAWARY, S. S. *et al.* Chemical composition and biological activities of essential oils of *Azadirachta indica* A. Juss. **International Journal of Applied Research in Natural Products**, v. 6, n. 4, p. 33-42, 2013.

EL-HAWARY, S. S. *et al.* DNA fingerprinting and botanical study of *Azadirachta indica* A. Juss.(neem) family Meliaceae. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 2, n. 1, p. 1-13, 2013.

ELOFF, J. N. Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 19, n. 1, p. 1-8, 2019.

ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA. Department of Health and Human Services. **OHAT Systematic Review**. Disponível em: <https://ntp.niehs.nih.gov/pubhealth/hat/review/index-2.html>. Acessado em 20 de novembro de 2022.

EVANS, S. R. *et al.* Rapid molecular diagnostics to inform empiric use of ceftazidime/avibactam and ceftolozane/tazobactam against *Pseudomonas aeruginosa*: PRIMERS IV. **Clinical Infectious Diseases**, v. 68, n. 11, p. 1823-1830, 2019.

FACCIN-GALHARDI, L. C. *et al.* Assessment of antiherpetic activity of nonsulfated and sulfated polysaccharides from *Azadirachta indica*. **International journal of biological macromolecules**, v. 137, p. 54-61, 2019.

FAROOQUI, N. A. *et al.* Antibacterial potential of nimbolide from *Azadirachta indica*. **Int. J. Pharm. Pharm. Sci**, v. 6, p. 636-638, 2014.

FENG, W. *et al.* Epidemiology and resistance characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from the respiratory department of a hospital in China. **Journal of global antimicrobial resistance**, v. 8, p. 142-147, 2017.

FERNANDES, J. M. Espécies medicinais do gênero *Zanthoxylum* (Rutaceae) no Brasil. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 10, p. e470111033064-e470111033064, 2022.

FERNANDES, S. P. S. *et al.* **Altura de decepta para estabelecimento de minijardim clonal de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss).** 2017.

FERREIRA, F. S. *et al.* Atividade antibacteriana in vitro de extratos de *Rhizophora mangle* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 305-310, 2011.

FIGUEREDO, A. C. F. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa*: overview of the profile of resistance to carbapenems in Brazil. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, n.1, p. 9661-9672 jan. 2021.

FRANCINE, U.; JEANNETTE, U.; PIERRE, R. J. Assessment of antibacterial activity of neem plant (*Azadirachta indica*) on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **J Med Plants Stud**, v. 3, n. 4, p. 85-91, 2015.

FUENTEFRÍA, D. B. **Deteção de metalo  $\beta$ -lactamases e similaridade genética em**

**isolados de *Pseudomonas aeruginosa* de efluente hospitalar e água superficial.** Porto Alegre. Tese [Doutorado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente] - Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2009.

GADIEN, L. A. *et al.* Antimicrobial and wound healing activity of neem fruit extract, ointment and gel formulas. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 8, p. 950–960, 2015.

GAGNIER, J. J. *et al.* Herbal medicine for low back pain: A Cochrane review. **Spine**, v. 41, n. 2, p. 116-133, 2016.

GAIKWAD, B. R. *et al.* Nimbocinol and 17-epinimbocinol from the nimbodin fraction of neem oil. **Phytochemistry**, v. 29, n. 12, p. 3963-3965, 1990.

GALDINO, A. C. M. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* and its arsenal of proteases: weapons to battle the host. **Pathophysiological aspects of proteases**, p. 381-397, 2017.

GARG, H. S.; BHAKUNI, D. S. An isoprenylated flavanone from leaves of *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 9, p. 2115-2118, 1984.

GARG, P. *et al.* Comparison of antimicrobial efficacy of propolis, *Morinda citrifolia*, *Azadirachta indica*, triphala, green tea polyphenols and 5.25% sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* biofilm. **Saudi endod J**, v. 4, n. 3, p. 122-7, 2014.

GARG, R. *et al.* Evaluation of antibacterial activity of *Annona squamosa*, *Psidium guajava* and *Azadirachta indica* against pathogenic bacterial cultures. **International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology**, v. 2, n. 4, p. 54–58, 2015

GILTNER, C. L. *et al.* Evolutionary and functional diversity of the *Pseudomonas* type IVa pilin island. **Environmental microbiology**, v. 13, n. 1, p. 250-264, 2011.

GILTNER, C. L. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* minor pilins are incorporated into type IV pili. **Journal of molecular biology**, v. 398, n. 3, p. 444-461, 2010.

GILTNER, C. L. *et al.* Type IV pilin proteins: versatile molecular modules. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 76, n. 4, p. 740-772, 2012.

GNANAKALAI, K.; GOPAL, R. Phytochemical constituents and *in vitro* antibacterial activity of various extract of *Azadirachta indica* (neem). **Int. J. Current Pharmc. Res**, v. 8, n. 3, p. 52-55, 2016.

GNANAKALAI, K.; GOPAL, R. Phytochemical constituents and *in vitro* antibacterial activity of various extract of *Azadirachta indica* (neem). **Int. J. Current Pharmc. Res**, v. 8, n. 3, p. 52-55, 2016.

GOMASE, P. V. *et al.* Phytochemical evaluation and hepatoprotective activity of fresh juice of young stem (tender) bark of *Azadirachta indica* A. Juss. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 2, p. 55-59, 2011.

GONMODE, W. N. *et al.* Comparison of antibacterial efficacy of neem leaf extract, grape seed extracts and 3% sodium hypochlorite against *E. faecalis*—An *in vitro* study. **J Int Oral Health**, v. 5, p. 61-6, 2013.

- GOSSE, B. *et al.* Analysis of components of neem (*Azadirachta indica*) oil by diverse chromatographic techniques. **Journal of liquid chromatography & related technologies**, v. 28, n. 14, p. 2225-2233, 2005.
- GOVINDACHARI, T. R. *et al.* Antifungal activity of some tetranortriterpenoids. **Fitoterapia**, v. 71, n. 3, p. 317-320, 2000.
- GOVINDACHARI, T. R. *et al.* Isolation of a new tetranortriterpenoid from the uncrushed green leaves of *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 52, n. 6, p. 1117-1119, 1999.
- GROVER, A. *et al.* Antimicrobial activity of medicinal plants-*Azadirachta indica* A. Juss, *Allium cepa* L. and *Aloe vera* L. **Int J Pharm Tech Res**, v. 3, n. 2, p. 1059-65, 2011.
- GU, S.; ERAJ, A.; ASHRAF, Z. *Glycyrrhiza glabra* and *Azadirachta indica* against *Salmonella Typhi*: Herbal Treatment as an Alternative Therapy for Typhoid Fever. **Archives of Medicine**, v. 7, n. 6, p. 0-0, 2015.
- GUREJE, O. *et al.* The role of global traditional and complementary systems of medicine in the treatment of mental health disorders. **The Lancet Psychiatry**, v. 2, n. 2, p. 168-177, 2015.
- HALDAR, S. *et al.* Expedient preparative isolation, quantification and characterization of limonoids from Neem fruits. **Analytical Methods**, v. 5, n. 20, p. 5386-5391, 2013.
- HALLUR, G. *et al.* Three new tetranortriterpenoids from neem seed oil. **Journal of natural products**, v. 65, n. 8, p. 1177-1179, 2002.
- HANDORE, A. V. *et al.* Exploration of Bacterial Siderophores for Sustainable Future. In: **Climate Change and Microbial Diversity**. Apple Academic Press. p. 163-189.
- HAQUE, M. *et al.* Health care-associated infections—an overview. **Infection and drug resistance**, v. 11, p. 2321, 2018.
- HARMSSEN, M. *et al.* An update on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation, tolerance, and dispersal. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 59, n. 3, p. 253-268, 2010.
- HASSAN, H. Mutlak A. A short history of the use of plants as medicines from ancient times. **Chimia**, v. 69, n. 10, p. 622-622, 2015.
- HEINIGER, R. W. *et al.* Infection of human mucosal tissue by *Pseudomonas aeruginosa* requires sequential and mutually dependent virulence factors and a novel pilus-associated adhesin. **Cellular microbiology**, v. 12, n. 8, p. 1158-1173, 2010.
- HENDERSON, P. J. F. *et al.* Physiological functions of bacterial “multidrug” efflux pumps. **Chemical reviews**, v. 121, n. 9, p. 5417-5478, 2021.
- HERNÁNDEZ-AQUINO, E.; MURIEL, P. Beneficial effects of naringenin in liver diseases: Molecular mechanisms. **World journal of gastroenterology**, v. 24, n. 16, p. 1679, 2018.
- HEYMAN, L. *et al.* Combined antioxidant effects of Neem extract, bacteria, red blood cells and Lysozyme: possible relation to periodontal disease. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 17, p. 1-8, 2017.

HIGGINS, J. P. T.; GREEN, S. (ed). **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions**. Ed.5.1.0. (s.l.): The Cochrane Collaboration, 2011. Disponível em: [www.handbook.cochrane.org](http://www.handbook.cochrane.org). Acesso em 10 jan. 2023.

HOBSON, C.; CHAN, A. N.; WRIGHT, G. D. The antibiotic resistome: a guide for the discovery of natural products as antimicrobial agents. **Chemical Reviews**, v. 121, n. 6, p. 3464-3494, 2021.

HORCAJADA, J. P. *et al.* Epidemiology and treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. **Clinical microbiology reviews**, v. 32, n. 4, p. e00031-19, 2019.

HOSSEINZADEH, S. *et al.* The application of medicinal plants in traditional and modern medicine: a review of *Thymus vulgaris*. **International Journal of Clinical Medicine**, v. 6, n. 09, p. 635, 2015.

HOUSSEINI B ISSA, K.; PHAN, G.; BROUTIN, I. Functional mechanism of the efflux pumps transcription regulators from *Pseudomonas aeruginosa* based on 3D structures. **Frontiers in molecular biosciences**, v. 5, p. 57, 2018.

HUSZCZYNSKI, S. M. *et al.* The role of *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide in bacterial pathogenesis and physiology. **Pathogens**, v. 9, n. 1, p. 6, 2019.

IAKSHMI, S. S. *et al.* *In vitro* studies on medicinal plants used against bacterial diabetic foot ulcer (BDFU) and urinary tract infected (UTI) causing pathogens. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 40, n. 3, p. 667-673, 2016.

IDOWU, T. *et al.* Potentiation of  $\beta$ -lactam antibiotics and  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor combinations against MDR and XDR *Pseudomonas aeruginosa* using non-ribosomal tobramycin–cyclam conjugates. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 74, n. 9, p. 2640-2648, 2019.

IGNACIMUTHU, S.; JAYARAJ, S. (Ed.). **Green pesticides for insect pest management**. Alpha Science Int'l Ltd., 2005.

INOUE, M.; HAYASHI, S.; CRAKER, L. E. Role of medicinal and aromatic plants: Past, present, and future. **Pharmacognosy-Medicinal Plants**, p. 1-13, 2019.

IYER, R. *et al.* Whole-cell-based assay to evaluate structure permeation relationships for carbapenem passage through the *Pseudomonas aeruginosa* porin OprD. **ACS infectious diseases**, v. 3, n. 4, p. 310-319, 2017.

JAGTAP, K.; CHAVAN, M. *In vitro* antibacterial activity of medicinal plant against bacterial pathogens. **Eur J Pharm Med Res**, v. 3, n. 6, p. 497-500, 2016.

JAIN, Isha *et al.* Comparative evaluation of antibacterial efficacy of six Indian plant extracts against *Streptococcus mutans*. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDDR**, v. 9, n. 2, p. ZC50, 2015.

JAMSHIDI-KIA, F.; LORIGOOINI, Z.; AMINI-KHOEI, H. Medicinal plants: Past history and future perspective. **Journal of herbmed pharmacology**, v. 7, n. 1, 2018.

JANGRA, V. *et al.* Therapeutic approaches for combating *Pseudomonas aeruginosa* Infections. **Microbes and Infection**, v. 24, n. 4, p. 104950, 2022.

JARVIS, A. P. *et al.* Photooxidation of nimbin and salannin, tetranortriterpenoids from the neem tree (*Azadirachta indica*). **Journal of chemical ecology**, v. 23, n. 12, p. 2841-2860, 1997.

JARVIS, A. P.; MORGAN, E. D. Analysis of small samples of limonoids of neem (*Azadirachta indica*) using solid phase extraction from tissue culture. **Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques**, v. 11, n. 3, p. 184-189, 2000.

JESSINTA, S. *et al.* Impact of geographic variation on physicochemical properties of neem (*Azadirachta indica*) seed oil. **Int J Pharm Sci Res**, v. 5, n. 10, p. 4406-13, 2014.

JHA, A. K.; SIT, N. Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 119, p. 579-591, 2022.

JINDAL, M.; CHAUHAN, S. *In vitro* comparison of the antibacterial activity of ethanolic extract of *Azadirachta indica* leaves with gentamycin, ampicillin, nitrofurantoin, and cotrimoxazole on bacterial pathogens isolated from urinary tract infection patients. **Asian J. Pharm. Clin. Res.** v. 10, n. 8, p. 72-74, 2017.

JOHNSON, S. *et al.* Development of the major triterpenoids and oil in the fruit and seeds of neem (*Azadirachta indica*). **Annals of Botany**, v. 78, n. 3, p. 383-388, 1996.

JURADO-MARTÍN, I. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa*: An audacious pathogen with an adaptable arsenal of virulence factors. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 6, p. 3128, 2021.

KADRI, S. S. *et al.* Difficult-to-treat resistance in gram-negative bacteremia at 173 US hospitals: retrospective cohort analysis of prevalence, predictors, and outcome of resistance to all first-line agents. **Clinical Infectious Diseases**, v. 67, n. 12, p. 1803-1814, 2018.

KANWAL, S. *et al.* Antioxidant, antitumor activities and phytochemical investigation of *Hedera nepalensis* K. Koch, an important medicinal plant from Pakistan. **Pak J Bot**, v. 43, n. 8, p. 85-89, 2011.

KARUNAMOORTHY, K. *et al.* Traditional medicinal plants: a source of phytotherapeutic modality in resource-constrained health care settings. **Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**, v. 18, n. 1, p. 67-74, 2013.

KAVERIMANIAN, V.; HEUERTZ, R. Effect of Azadirachtin on Bacterial Biofilm Formation. **The FASEB Journal**, v. 33, n. S1, p. 650.6-650.6, 2019.

KHAMENEH, B. *et al.* Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 8, n. 1, p. 1-28, 2019.

KOLOMAZNIK, M.; NOVA, Z.; CALKOVSKA, A. Pulmonary surfactant and bacterial lipopolysaccharide: the interaction and its functional consequences. **Physiological research**, v. 66, p. S147, 2017.

KRAUS, W. *et al.* Tetranortriterpenoids from the seeds of *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 20, n. 1, p. 117-120, 1981.

KRAUS, W.; CRAMER, R. 17-Epiaziradione and 17-hydroxyazadiradione Zwei Neue Inhaltsstoffe aus *Azadirachta indica* A. Juss. **Tetrahedron Letters**, p.2395, 1978.

KUBO, I. *et al.* New insect ecdysis inhibitory limonoid deacetylazadirachtinol isolated from *Azadirachta indica* (Meliaceae) oil. **Tetrahedron**, v. 42, n. 2, p. 489-496, 1986.

KUMAR, A. S. S. *et al.* Terpenoids and Its Commercial Utility from Neem: The Nature's Own Pharmacy. **Asian journal of Chemistry**, v. 26, n. 16, p. 4940, 2014.

KUMAR, C.S.S.R. *et al.* Limonoids from the seeds of *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 43, n. 2, p. 451-455, 1996.

KUMAR, N. *et al.* Preliminary phytochemical screening and *in vitro* antibacterial evaluation of the leaf and root extract of *Azadirachta indica* Plant. **Int J Pharm Front**, v. 2, p. 32-41, 2012.

KUMAR, P. Sudhir *et al.* Biological action and medicinal properties of various constituent of *Azadirachta indica* (Meliaceae): an overview. **Annals of Biological research**, v. 1, n. 3, p. 24-34, 2010.

KURAVADI, N. A.; GOWDA, M. Phylogeny of Neem and Related Species in the Meliaceae Family. In: **The Neem Genome**. Springer, Cham, 2019. p. 49-51.

KVIECINSKI, M. R. *et al.* Atividade antitumoral de extratos de *Bidens pilosa* Linné ricos em poliacetilenos e de juglona associada ao ascorbato. 2013.

LALL, W. S. *et al.* Antimicrobial activity of methanolic and acetonitrilic extracts of *Azadirachta indica*, *Saraca asoca* and *Curcuma longa*. **International Journal of Medicine and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 2, p. 79-86, 2013.

LEES, P. *et al.* The decline and fall of materia medica and the rise of pharmacology and therapeutics in veterinary medicine. **Frontiers in veterinary science**, v. 8, p. 1592, 2022.

LEHMAN, H. K.; SEGAL, B. H. The role of neutrophils in host defense and disease. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 145, n. 6, p. 1535-1544, 2020.

LI, G.; LOU, H. X. Strategies to diversify natural products for drug discovery. **Medicinal research reviews**, v. 38, n. 4, p. 1255-1294, 2018.

LI, X. Z.; PLÉSIAT, P. Antimicrobial drug efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. **Efflux-Mediated Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Regulation and Clinical Implications**, p. 359-400, 2016.

LIMA, L. M. *et al.*  $\beta$ -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 208, p. 112829, 2020.

LIRA, R. P. C. *et al.* Imprescriptible items in a clinical research question. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 82, p. 1-1, 2019.

- LIU, Y.; LIU, J.-H. Monitoring colistin resistance in food animals, an urgent threat. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 16, n. 6, p. 443-446, 2018.
- LOPES, A. V. C; CATTELAN, M. G. Potencial *in vitro* de extratos aquosos de ora-pro-nobis. **Revista Científica**, v. 1, n. 1, 2022.
- LORUSSO, A. B. et al. Role of Efflux Pumps on Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 24, p. 15779, 2022.
- LUO, X. D. *et al.* A new triterpenoid from *Azadirachta indica*. **Fitoterapia**, v. 71, n. 6, p. 668-672, 2000.
- LUO, X. *et al.* Two novel azadirachtin derivatives from *Azadirachta indica*. **Journal of Natural Products**, v. 62, n. 7, p. 1022-1024, 1999.
- MAGIORAKOS, A. P. *et al.* Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical microbiology and infection**, v. 18, n. 3, p. 268-281, 2012.
- MAHMOUD, D. A. et al. Antifungal activity of different neem leaf extracts and the nimonol against some important human pathogens. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 1007-1016, 2011.
- MAIA, D. R. **Extrato a base de taninos da casca da *Azadirachta indica* A Juss. e seu potencial antioxidante e antibacteriano.** 2021. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
- MAITHANI, A. *et al.* *Azadirachta indica* (neem) leaf: A review. **Journal of Pharmacy Research**, v. 4, n. 6, p. 1824-1827, 2011.
- MAJUMDER, P. L. *et al.* Nimbidol, a modified diterpenoid of the root-bark of *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 11, p. 3021-3023, 1987.
- MALDONADO, R. F. *et al.* Lipopolysaccharide modification in Gram-negative bacteria during chronic infection. **FEMS microbiology reviews**, v. 40, n. 4, p. 480-493, 2016.
- MANACH, C. *et al.* Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American journal of clinical nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.
- MANOGARAN, S.; SULOCHANA, N.; KAVIMANI, S. Anti-Inflammatory and antimicrobial activities of the root, bark and leaves of *Azadirachta indica*. **Ancient Science of Life**, v. 18, n. 1, p. 29, 1998.
- MARREZ, D. A.; MOHAMAD, H. S. Biological activity and applications of pyocyanin produced by *Pseudomonas aeruginosa*. 2020.
- MASI, M.; WINTERHALTER, M.; PAGÈS, J. M. Outer membrane porins. **Bacterial cell walls and membranes**, p. 79-123, 2019.
- MATOS, S. F. **Plantas medicinais no nordeste brasileiro: biodiversidade e os seus usos.** 2021.

MAURICE, N. M. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: host response and clinical implications in lung infections. **American journal of respiratory cell and molecular biology**, v. 58, n. 4, p. 428-439, 2018.

MCCARTHY, K. L.; PATERSON, D. L. Increased risk of death with recurrent *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 88, n. 2, p. 152-157, 2017.

MEHRISHI, P. *et al.* Antibacterial and antibiofilm properties of *Azadirachta indica* (Neem), *Aloe vera* (Aloe vera), and *Mentha piperita* (Peppermint) against multidrug-resistant clinical isolates. **Biomedical and Biotechnology Research Journal (BBRJ)**, v. 6, n. 1, p. 98, 2022.

MEHRISHI, P. *et al.* Antibacterial and antibiofilm properties of *Azadirachta indica* (neem), *Aloe vera* (Aloe vera), and *Mentha piperita* (peppermint) against multidrug-resistant clinical isolates. **Biomed Biotechnol Res J**, v. 6, p. 98-104, 2022.

MEHROTRA, S. *et al.* Comparative antimicrobial activities of Neem, Amla, Aloe, Assam Tea and Clove extracts against *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 23, p. 2473-2478, 2010.

MELETIS, G. *et al.* Mechanisms responsible for the emergence of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **Hippokratia**, v. 16, n. 4, p. 303, 2012.

MIKALAIUSKAS, A. **Regulation of the mexCD-oprJ multidrug efflux operon in *Pseudomonas aeruginosa*: characterization of the NfxB-EsrC repressor interaction.** 2015. Tese de Doutorado.

MILLER, S. A.; FERREIRA, J. P.; LEJEUNE, J. T. Antimicrobial use and resistance in plant agriculture: a one health perspective. **Agriculture**, v. 12, n. 2, p. 289, 2022.

MISHRA, M. P. *et al.* *In vitro* antibacterial activity of crude extracts of 9 selected medicinal plants against UTI causing MDR bacteria. **Journal of King Saud University-Science**, v. 29, n. 1, p. 84-95, 2017.

MISHRA, M. P.; PADHY, R. N. *In vitro* antibacterial efficacy of 21 Indian timber-yielding plants against multidrug-resistant bacteria causing urinary tract infection. **Osong public health and research perspectives**, v. 4, n. 6, p. 347-357, 2013.

MISTRY, K. S. *et al.* The antimicrobial activity of *Azadirachta indica*, *Mimusops elengi*, *Tinospora cardifolia*, *Ocimum sanctum* and 2% chlorhexidine gluconate on common endodontic pathogens: An *in vitro* study. **European journal of dentistry**, v. 8, n. 02, p. 172-177, 2014.

MITRA, C. R. *et al.* Identification of nimbidic acid and nimbidinin from *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 10, n. 4, p. 857-864, 1971.

MOGLAD, E. H. *et al.* Various medicinal plants: a promising treatment for multidrug-resistant bacteria isolated from wound infection. **Int. J. Pharm. Sci. Res**, v. 11, n. 2, p. 839-843, 2020.

MOIN, M. S. *et al.* **Ethnomedicinal potential of widely used plant *Azadirachta indica* A. Juss: A comprehensive review.** 2021.

- MOMCHILOVA, S. *et al.* Fatty acids, triacylglycerols, and sterols in neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) as determined by a combination of chromatographic and spectral techniques. **Journal of liquid chromatography & related technologies**, v. 30, n. 1, p. 11-25, 2007.
- MONTEIRO, S. C.; BRANDELLI, C. L. C. **Farmacobotânica** - Aspectos teóricos e aplicação. Porto Alegre, ARTMED, 2017.
- MONTINARI, M. R. *et al.* The first 3500 years of aspirin history from its roots—A concise summary. *Vascular pharmacology*, v. 113, p. 1-8, 2019.
- MORA, M. *et al.* Microorganisms in confined habitats: microbial monitoring and control of intensive care units, operating rooms, cleanrooms and the International Space Station. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1573, 2016.
- MORADALI, M. F.; GHODS, S.; REHM, B. H. A. Activation mechanism and cellular localization of membrane-anchored alginate polymerase in *Pseudomonas aeruginosa*. **Applied and environmental microbiology**, v. 83, n. 9, p. e03499-16, 2017.
- MORDOR INTELLIGENCE. ***Pseudomonas aeruginosa* infection treatment market - growth, trends, covid-19 impact, and forecasts (2022 - 2027)**. Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/pseudomonas-aeruginosa-infection-treatment-marke> (acessado em: 30 de novembro de 2022).
- MOREIRA, M. A. S.; SOUZA, E. C.; MORAES, C. A. Multidrug efflux systems in Gram-negative bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 19-28, 2004.
- MORIMOTO, Y. V.; MINAMINO, T. Structure and function of the bi-directional bacterial flagellar motor. **Biomolecules**, v. 4, n. 1, p. 217-234, 2014.
- MORITA, Y.; TOMIDA, J.; KAWAMURA, Y. Responses of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials. **Frontiers in microbiology**, v. 4, p. 422, 2014.
- MOSTAFA, M. *et al.* Antibacterial activity of six medicinal plants used in traditional medicine growing in Bangladesh. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 5, n. 6, p. 2210, 2014.
- MUBARAK, A. M.; KULATILLEKE, C. P. Sulphur constituents of neem seed volatiles: A revision. **Phytochemistry**, v. 29, n. 10, p. 3351-3352, 1990.
- MUDDASSIR, M. *et al.* Biological activities of extracts obtained from natural origin. **Cell**, v. 321, p. 6495617, 2018.
- MUHAMMAD, G. *et al.* Alhagi: a plant genus rich in bioactives for pharmaceuticals. **Phytotherapy research**, v. 29, n. 1, p. 1-13, 2015.
- MULLA, S. I. *et al.* Antibacterial Activity of Some Traditional Plants. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 11, n. 2, p. 766-768, 2018.
- MURADOR, D. C. *et al.* Bioavailability and biological effects of bioactive compounds extracted with natural deep eutectic solvents and ionic liquids: Advantages over conventional organic solvents. **Current opinion in food science**, v. 26, p. 25-34, 2019.

MURRAY, C. J. L. *et al.* Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, v. 399, n. 10325, p. 629-655, 2022.

NADKARNI, K. M. Indian Materia Medica. **Popular Prakashan**, Bombay 1: p.776–779, 1976.

NAENNA, P. *et al.* Detection of outer membrane porin protein, an imipenem influx channel, in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. **Southeast Asian journal of tropical medicine and public health**, v. 41, n. 3, p. 614, 2010.

NAIK, M. R. *et al.* Study of anti-inflammatory effect of neem seed oil (*Azadirachta indica*) on infected albino rats. **Journal of Health Research and Reviews**, v. 1, n. 3, p. 66, 2014.

NAIR, M. S. *et al.* Optimised isolation procedure for biologically active compounds nimbolide and 28-deoxonimbolide from *Azadirachta indica* leaves. **Phytochemistry**, v. 46, n. 7, p. 1177-1178, 1997.

NAKAHARA, K. *et al.* Antimutagenicity of some edible Thai plants, and a bioactive carbazole alkaloid, mahanine, isolated from *Micromelum minutum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 17, p. 4796-4802, 2002.

NAKAHARA, K. *et al.* Prenylated flavanones isolated from flowers of *Azadirachta indica* (the neem tree) as antimutagenic constituents against heterocyclic amines. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 22, p. 6456-6460, 2003.

NAND, P. *et al.* Insignificant anti-acne activity of *Azadirachta indica* leaves and bark. **J Pharm Negat Results**, v. 3, n. 1, p. 29-33, 2012.

NARAYANAN, A. *et al.* Antibacterial activity of selected medicinal plants against multiple antibiotic resistant uropathogens: a study from Kolli Hills, Tamil Nadu, India. **Beneficial Microbes**, v. 2, n. 3, p. 235-243, 2011.

NARENDHIRAKANNAN, R. T. *et al.* Evaluation of antibacterial, antioxidant and wound healing properties of seven traditional medicinal plants from India in experimental animals. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 3, p. S1245-S1253, 2012.

NAZ, H. *et al.* Leaf extract of neem (*Azadirachta indica*) alleviates adverse effects of drought in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) plants through alterations in biochemical attributes and antioxidants. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 3, p. 1367-1374, 2022.

NEETA, P.; PANKAJ, M. Antibacterial study of neem patra extracts on *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacteria*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*—An *in vitro* study. **International Journal Of Ayurvedic And Herbal Medicine**, v. 6, n. 3, p. 2248-2251, 2016.

NÉMETH, T.; SPERANDIO, M.; MÓCSAI, A. Neutrophils as emerging therapeutic targets. **Nature reviews Drug discovery**, v. 19, n. 4, p. 253-275, 2020.

NETY, S. *et al.* Comparative efficacy of anti-microbial activity of *Tinospora cordifolia*, *Azadirachta indica* and *Andrographis paniculata* extracts against gram positive and gram negative bacteria. **Indian Veterinary Journal**, v. 94, n. 5, p. 25-28, 2017.

- NEVES, P. R. et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: an endemic problem in Brazil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, p. 409-420, 2011.
- NGUYEN, L. T. T. et al. Simultaneous determination of active compounds in *Piper betle* Linn. leaf extract and effect of extracting solvents on bioactivity. **Engineering Reports**, v. 2, n. 10, p. e12246, 2020.
- NIGUSSIE, D. et al. Antibacterial activity of methanol extracts of the leaves of three medicinal plants against selected bacteria isolated from wounds of lymphoedema patients. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 21, n. 1, p. 1-10, 2021.
- NOVIK, G.; SAVICH, V.; KISELEVA, E. An insight into beneficial *Pseudomonas* bacteria. **Microbiology in agriculture and human health**, v. 1, n. 5, p. 73-105, 2015.
- NWAKAEZE, E. et al. Inhibitory effects of Neem (*Azadirachta indica* Linn.) and Bitter Kola (*Garcinia kola* Heckel) leaves on selected pathogenic bacteria. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 7, n. 41, p. 2763-2767, 2013.
- OAKE, A. et al. Mechanisms and Ways of Macrophage Delivery. In: Macrophage Targeted Delivery Systems. **Springer, Cham**, 2022. p. 51-63.
- OKATA-NWALI, D. O. et al. Phytochemical Evaluation and Antimicrobial Potential Assessment of Some Spices on Selected Pathogenic Microorganisms in Alex Ekwueme Federal Teaching Hospital, Abakaliki, Nigeria. **Journal of Pharmaceutical Research International**, v. 33, n. 26, p. 60-68, 2021.
- OKUDA, J. et al. Translocation of *Pseudomonas aeruginosa* from the intestinal tract is mediated by the binding of ExoS to an Na, K-ATPase regulator, FXYD3. **Infection and immunity**, v. 78, n. 11, p. 4511-4522, 2010.
- OLABINRI, B. M. et al. Phytochemical profiling of phytoconstituents of grape, *Jatropha curcas* and Neem (*Azadirachta indica*) extracts. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v. 6, n. 2, p. 17-23, 2014.
- OLIVEIRA, I. F. L. et al. **Avaliação das atividades biológicas das espécies *Moringa oleífera* e *Azadirachta indica* em células HTR e identificação de seus compostos por meio de RMN.** 2021.
- OLIVEIRA-TINTINO, C. D. M. et al. NorA, Tet (K), MepA, and MsrA Efflux Pumps in *Staphylococcus aureus*, their Inhibitors and 1, 8-Naphthyridine Sulfonamides. **Current Pharmaceutical Design**, 2022.
- ORHUE, P. O.; MOMOH, A. R. M. Antibacterial effect of *Azadirachta indica* (CN: Neem or Dongo Yaro) parts on some urinary tract bacterial isolates. 2011.
- OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 301-307, 2008.
- OTHMAN, M. et al. Optimal methods for evaluating antimicrobial activities from plant extracts. **Journal of Microbiological Methods**, v. 84, n. 2, p. 161-166, 2011.

OZEN, A. I.; DAVID, W. Ussery Setting the *Pseudomonas* Genre: Where do we draw the line Azotobacter? **Ecol Microb** 63 (2): 239-248. 2013.

OZER, E. *et al.* An inside look at a biofilm: *Pseudomonas aeruginosa* flagella biotracking. **Science advances**, v. 7, n. 24, p. eabg8581, 2021.

PACHORI, P.; GOTHALWAL, R.; GANDHI, P. Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. **Genes & diseases**, v. 6, n. 2, p. 109-119, 2019.

PAGE M. J., *et al.* The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. **BMJ**, 2021.

PAN, S. Y. *et al.* Historical perspective of traditional indigenous medical practices: the current renaissance and conservation of herbal resources. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 2014, 2014.

PANDEY, G. *et al.* Evaluation of phytochemical, antibacterial and free radical scavenging properties of *Azadirachta indica* (neem) leaves. **Int J Pharm Pharm Sci**, v. 6, n. 2, p. 444-447, 2014.

PANG, Z. *et al.* Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. **Biotechnology advances**, v. 37, n. 1, p. 177-192, 2019.

PAPOFF, P. *et al.* Gut microbial translocation in critically ill children and effects of supplementation with pre-and pro biotics. **International journal of microbiology**, v. 2012, 2012.

PARASHAR, G. *et al.* Antibacterial activity of mixture of leaf extracts of neem (*Azadirachta indica* linn.) and Tantani (*Lantana camara*). **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 9, n. 6, p. 2545-2549, 2018.

PARK, W. S. *et al.* Benzyl Isothiocyanate Attenuates Inflammasome Activation in *Pseudomonas aeruginosa* LPS-Stimulated THP-1 Cells and Exerts Regulation through the MAPKs/NF- $\kappa$ B Pathway. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1228, 2022.

PATEL, R. *et al.* Herbal Plants: A Potential Agent to Cure Infectious Mastitis in Bovine Animals. **International Journal of Phytomedicine**, v. 5, n. 3, p. 362, 2013.

PATEL, S. M. *et al.* Potential of neem (*Azadirachta indica* L.) for prevention and treatment of oncologic diseases. In: **Seminars in cancer biology**. Academic Press, 2016. p. 100-115.

PEEK, M. E. *et al.* Pyoverdine, the major siderophore in *Pseudomonas aeruginosa*, evades NGAL recognition. **Interdisciplinary perspectives on infectious diseases**, v. 2012, 2012.

PEIX, A. *et al.* Historical evolution and current status of the taxonomy of genus *Pseudomonas*. **Infection, genetics and evolution**, v. 9, n. 6, p. 1132-1147, 2009.

PEREZ, J. J.; CHEN, C. Y. Rapid detection and quantification of aminoglycoside phosphorylation products using direct-infusion high-resolution and ultra-high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**,

v. 32, n. 20, p. 1822-1828, 2018.

PEREZ, L. R. R. *et al.* Nutritional requirement among *Pseudomonas aeruginosa* isolates recovered from respiratory clinical specimens at a tertiary hospital from South of Brazil. **Braz J Microbiol**, v. 42, n. 3, p. 1061-1064, 2011.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R. *et al.* Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. **Journal of applied microbiology**, v. 90, n. 4, p. 494-507, 2001.

QIN, S. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 7, n. 1, p. 1-27, 2022.

RAFEY, A. *et al.* Analysis of plant origin antibiotics against oral bacterial infections using *in vitro* and *in silico* techniques and characterization of active constituents. **Antibiotics**, v. 10, n. 12, p. 1504, 2021.

RAJASEKARAN, C. *et al.* Investigations on antibacterial activity of leaf extracts of *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae): a traditional medicinal plant of India. **Ethnobotanical leaflets**, v. 2008, n. 1, p. 161, 2008.

RAMAN, G. *et al.* Risk factors for hospitalized patients with resistant or multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections: a systematic review and meta-analysis. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 7, n. 1, p. 1-14, 2018.

RAMJI, N. *et al.* 11-epi-azadirachtin D: An epimeric azadirachtin analogue from *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 1, p. 265-267, 1998.

RAMJI, N. *et al.* 11-Epi-azadirachtin H from *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 42, n. 2, p. 561-562, 1996.

RANJITKAR, S. *et al.* Target (MexB)-and efflux-based mechanisms decreasing the effectiveness of the efflux pump inhibitor D13-9001 in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1: uncovering a new role for MexMN-OprM in efflux of  $\beta$ -lactams and a novel regulatory circuit (MmnRS) controlling MexMN expression. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 63, n. 2, p. e01718-18, 2019.

RAPINI, A. Introduction to botanical taxonomy. In: Methods and Techniques in Ethnobiology and Ethnoecology. Humana Press, New York, NY, 2014. p. 123-139. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 3, p. 305-310, 2011.

RATH, S. *et al.* Surveillance of multidrug resistance of 6 uropathogens in a teaching hospital and in vitro control by 25 ethnomedicinal plants used by an aborigine of India. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 2, p. S818-S829, 2012.

RAVI, K. *et al.* Phytochemical screening and antibacterial activity of ethanol extract of leaves and twigs of *Azadirachta indica* A. Juss. **Pharmaceutical and Biosciences Journal**, p. 56-59, 2015.

RECIO, R. *et al.* Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* and impact of antimicrobial resistance and bacterial virulence. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 64, n. 2, p. e01759-19, 2020.

- REKHA, A. *et al.* Effect of some medicinal herbal extracts on clinically important bacterial pathogens. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 2, n. 9, p. 2362, 2011.
- REKHA, S. R. *et al.* Antibacterial Efficacy And Minimum Inhibitory Concentrations of Medicinal Plants against Wound Pathogens. **Biomedical and Pharmacology Journal**, v. 11, n. 1, p. 237-246, 2018.
- RESTREPO, M. I.; ALIBERTI, S. **ERS guideline compliant antibiotics among hospitalized patients with Community-acquired pneumonia on the ward service**. 2018.
- REYGAERT, W. C. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. **AIMS microbiology**, v. 4, n. 3, p. 482, 2018.
- REYNOLDS, Dan; KOLLEF, Marin. The epidemiology and pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections: an update. **Drugs**, v. 81, n. 18, p. 2117-2131, 2021.
- RIEDEL, S. *et al.* **Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick & Adelberg-28**. McGraw Hill Brasil, 2022.
- ROCHA, A. J. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa*: virulence factors and antibiotic resistance genes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 62, 2019.
- ROHDE, M. The Gram-positive bacterial cell wall. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 3, p. 7.3. 10, 2019.
- ROJATKAR, S. R. *et al.* Tetranortriterpenoids from *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 1, p. 203-205, 1989.
- ROMA, A. *et al.* Selective induction of apoptosis by *Azadirachta indica* leaf extract by targeting oxidative vulnerabilities in human cancer cells. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, v. 18, n. 4, p. 729-746, 2015.
- ROSSI, E. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* adaptation and evolution in patients with cystic fibrosis. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 5, p. 331-342, 2021.
- SABNIS, A. *et al.* Colistin kills bacteria by targeting lipopolysaccharide in the cytoplasmic membrane. **Elife**, v. 10, p. e65836, 2021.
- SADEKUZZAMAN, M. *et al.* Current and recent advanced strategies for combating biofilms. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 4, p. 491-509, 2015.
- SADER, H. S. *et al.* Antimicrobial susceptibility of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from United States medical centers stratified by infection type: results from the International Network for Optimal Resistance Monitoring (INFORM) surveillance program, 2015–2016. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 92, n. 1, p. 69-74, 2018.
- SALAM, R. *et al.* Effect of neem and betel leaf against oral bacteria. **International Journal of Natural and Social Sciences**, v. 1, p. 52-57, 2014.

SALEEM, S. *et al.* A comprehensive review of phytochemical profile, bioactives for pharmaceuticals, and pharmacological attributes of *Azadirachta indica*. **Phytotherapy research**, v. 32, n. 7, p. 1241-1272, 2018.

SAMY, R. P. *et al.* Evaluation of aromatic plants and compounds used to fight multidrug resistant infections. **Evidence-Based complementary and alternative medicine**, v. 2013, 2013.

SANTACROCE, L. *et al.* Pre-chemistry concepts and medical therapy among ancient physicians through the pre-socratic philosophers. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)**, v. 20, n. 9, p. 1470-1477, 2020.

SANTAJIT, S.; INDRAWATTANA, N. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. **BioMed research international**, v. 2016, 2016.

SARAVANAN, S.; ARUNACHALAM, K.; PARIMELAZHAGAN, T. Antioxidant, analgesic, anti-inflammatory and antipyretic effects of polyphenols from *Passiflora subpeltata* leaves—a promising species of *Passiflora*. **Industrial crops and products**, v. 54, p. 272-280, 2014.

SARKAR, L. *et al.* *Azadirachta indica* A. Juss ameliorates Mouse Hepatitis virus-induced neuroinflammatory demyelination by modulating cell-to-cell fusion in an experimental animal model of Multiple Sclerosis. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 14, p. 116, 2020.

SARMIENTO, W. C.; MARAMBA, C. C.; GONZALES, M. L. M. An *in-vitro* study on the antibacterial effect of neem (*Azadirachta indica*) leaf extract on methicillin-sensitive and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **PIDSP J**, v. 12, n. 1, p. 40-45, 2011.

SARWAT, S. Z.; AHMAD, N. Screening of potential medicinal plants from district sawat specific for controlling women diseases. **Pakistan Journal of Botany**, v. 44, n. 4, p. 1193-8, 2012.

SCHAAF, O. *et al.* Rapid and sensitive analysis of azadirachtin and related triterpenoids from neem (*Azadirachta indica*) by high-performance liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 886, n. 1-2, p. 89-97, 2000.

SCHUMACHER, M. *et al.* Anti-inflammatory, pro-apoptotic, and anti-proliferative effects of a methanolic neem (*Azadirachta indica*) leaf extract are mediated via modulation of the nuclear factor- $\kappa$ B pathway. **Genes & nutrition**, v. 6, n. 2, p. 149-160, 2011.

SCOFFONE, V. C. *et al.* Role of RND Efflux Pumps in Drug Resistance of Cystic Fibrosis Pathogens. **Antibiotics** 2021, 10, 863. “**The Structural and Functional Study of Efflux Pumps Belonging to the RND Transporters Family from Gram-Negative Bacteria**”, p. 97, 2021.

SEKIGUCHI, J. *et al.* Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain that caused an outbreak in a neurosurgery ward and its *aac* (6′)-Ia gene cassette encoding a novel aminoglycoside acetyltransferase. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 49, n. 9, p. 3734-3742, 2005.

SENTHILKUMAR, P. *et al.* Antibacterial activity of neem extract and its green synthesized silver nanoparticles against *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 12, n. 2, p. 969-974, 2018.

SERAFIM, L. C. *et al.* **Proposta de melhoria do desempenho dos processos de um laboratório de diagnóstico microbiológico**. 2015.

SHAKYA, A. K. Medicinal plants: Future source of new drugs. **International Journal of Herbal Medicine**, v. 4, n. 4, p. 59-64, 2016.

SHAMSUNNAHAR, M. *et al.* Evaluation of antibacterial activity of indigenous medicinal plants in Bangladesh against some selected pathogenic strains. **Pharmacology Online**, v. 1, p. 10-19, 2019.

SHARMA, A. *et al.* Antibacterial activity of medicinal plants against pathogens causing complicated urinary tract infections. **Indian journal of pharmaceutical sciences**, v. 71, n. 2, p. 136, 2009.

SHARMA, G. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: potential therapeutic targets. **Biologicals**, v. 42, n. 1, p. 1-7, 2014.

SHARMA, M. *et al.* Antimicrobial screening of different extracts of South Indian medicinal plants of Meliaceae. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 5, p. 688-695, 2011.

SHARMA, V.; BALI, A.; SINGH, M. Two nonterpenoidal benzenoid constituents from leaves of *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 7, p. 2121-2123, 1998.

SHARMA, Y. *et al.* Comparative study of different parts of *Azadirachta indica* (neem) plant on the basis of anti-bacterial activity, phytochemical screening and its effect on rat PC-12 (Pheochromocytoma) cell line. **International Journal of Biotechnology and allied fields**, v. 2, n. 7, p. 144-154, 2014.

SIDDIQUI, B. S. *et al.* Analysis of insecticidal *Azadirachta indica* A. Juss. fractions. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 59, n. 1-2, p. 104-112, 2004.

SIDDIQUI, B. S. *et al.* Chemical constituents of the flowers of *Azadirachta indica*. **Helvetica chimica acta**, v. 86, n. 8, p. 2787-2796, 2003.

SIDDIQUI, B. S. *et al.* GC-based analysis of insecticidal constituents of the flowers of *Azadirachta indica* A. Juss. **Natural product research**, v. 23, n. 3, p. 271-283, 2009.

SIDDIQUI, B. S. *et al.* New insect-growth-regulator meliacin butenolides from the leaves of *Azadirachta indica* A. Juss. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, n. 16, p. 2367-2370, 1999.

SIDDIQUI, B. S. *et al.* Tetracyclic triterpenoids of the fruit coats of *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 47, n. 8, p. 1631-1636, 1998.

SIDDIQUI, B. S. *et al.* Two New Triterpenoids from *Azadirachta indica* and Their Insecticidal Activity. **Journal of natural products**, v. 65, n. 8, p. 1216-1218, 2002.

SIDDIQUI, B. S.; RASHEED, M. Three new triterpenoids from *Azadirachta indica*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 84, n. 7, p. 1962-1968, 2001.

SIDDIQUI, B. S.; TARIQ ALI, S.; KASHIF ALI, S. A new flavanoid from the flowers of *Azadirachta indica*. **Natural product research**, v. 20, n. 3, p. 241-245, 2006.

SIDDIQUI, S. *et al.* Constituents of *Azadirachta indica*: isolation and structure elucidation of a new antibacterial tetranortriterpenoid, mahmoodin, and a new protolimonoid, naheedn. **Journal of Natural Products**, v. 55, n. 3, p. 303-310, 1992.

SIDDIQUI, S. *et al.* Isolation of a triterpenoid from *Azadirachta indica*. **Phytochemistry**, v. 25, n. 9, p. 2183-2185, 1986.

SIDDIQUI, S. *et al.* Studies on the chemical constituents of *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae). I: Isolation and structure of a new tetranortriterpenoid-nimolicinol. **Heterocycles (Sendai)**, v. 22, n. 2, p. 295-298, 1984.

SIDDIQUI, S. *et al.* Tetracyclic triterpenoids and their derivatives from *Azadirachta indica*. **Journal of Natural Products**, v. 51, n. 1, p. 30-43, 1988.

SIDDIQUI, S. *et al.* Tetracyclic triterpenoids of the fruit coats of *Azadirachta indica*. **Journal of natural products**, v. 54, n. 2, p. 408-415, 1991.

SIDDIQUI, S., *et al.* Studies in the chemical constituents of *Azadirachta indica* A. Juss (meliaceae). Part 10. Isolation and structure elucidation of isonimolicinolide, the first 17-acetoxy tetranortriterpenoid and nimolicinoic acid, the first hexanortriterpenoid with an apoeuphane (apotirucallane) skeleton. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions**, 1, 1429-1432, 1987.

SILVA FILHO, L. V. R. F. *et al.* Infecção por *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes com fibrose cística: evidências científicas sobre o impacto clínico, diagnóstico e tratamento. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 39, p. 495-512, 2013.

SILVA, G. C. *et al.* Sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* l.(walp), tratadas com extrato de folhas de nim (*Azadirachta indica* a. juss.) avaliação da germinação e da incidência de fungos. **Scientia Agraria**, v. 12, n. 1, p. 19-23, 2011.

SILVA, J. A. A. *et al.* **Comportamento ecológico do Nim (*Azadirachta indica*) e componentes da fauna e flora do cerrado do oeste baiano.** 2019

SIMÕES, R. R. *et al.* Oral treatment with essential oil of *Hyptis spicigera* Lam. (Lamiaceae) reduces acute pain and inflammation in mice: Potential interactions with transient receptor potential (TRP) ion channels. **Journal of ethnopharmacology**, v. 200, p. 8-15, 2017.

SINAGA, M. *et al.* Preliminary phytochemical analysis and *in vitro* antibacterial activity of bark and seeds of Ethiopian neem (*Azadirachta indica* A. Juss). **World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences**, v. 5, n. 4, p. 1714-1723, 2016.

SINGH, A. *et al.* Antibacterial activity of six indigenous Indian plants: *Acacia nilotica* (Fabaceae), *Albizia saman* (Fabaceae), *Azadirachta indica* (Meliaceae), *Carica papaya* (Caricaceae), *Cymbopogon citratus* (Poaceae) and *Mangifera indica* (Anacardiaceae). **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 16, p. 666-669, 2016.

SINGH, A. G.; KUMAR, A.; TEWARI, D. D. An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Terai forest of western Nepal. **Journal of ethnobiology and ethnomedicine**, v. 8, n. 1, p. 1-15, 2012.

SINHA, D. J. *et al.* Antibacterial effect of *Azadirachta indica* (neem) or *Curcuma longa* (turmeric) against *Enterococcus faecalis* compared with that of 5% sodium hypochlorite or 2% chlorhexidine *in vitro*. **The Bulletin of Tokyo Dental College**, v. 58, n. 2, p. 103-109, 2017.

SINHA, M. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* theft biofilm require host lipids of cutaneous wound. **Annals of Surgery**, v. 5252, p. 1-23, 2022.

SOUSA, T. *et al.* Genomic and Metabolic Characteristics of the Pathogenicity in *Pseudomonas aeruginosa*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 23, p. 12892, 2021.

SPENGLER, G. *et al.* New roads leading to old destinations: efflux pumps as targets to reverse multidrug resistance in bacteria. **Molecules**, v. 22, n. 3, p. 468, 2017.

SPINDLER, A. **Caracterização de cepas de *Pseudomonas spp* isoladas de efluente hospitalar não tratado: resistência a beta-lactâmicos e presença de integrons**. Porto Alegre. Dissertação [Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Meio Ambiente] - Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2009.

STARADUMSKYTE, D.; PAULAUSKAS, A. Non-fermentative gram-negative bacteria in drinking water. **Journal of Water Resource and Protection**, v. 2014, 2014.

STRATEVA, T.; YORDANOV, D. *Pseudomonas aeruginosa*—a phenomenon of bacterial resistance. **Journal of medical microbiology**, v. 58, n. 9, p. 1133-1148, 2009.

SUBAPRIYA, R.; NAGINI, S. Medicinal properties of neem leaves: a review. **Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents**, v. 5, n. 2, p. 149-156, 2005.

SUBRAMANI, R.; NARAYANASAMY, M.; FEUSSNER, K. D. Plant-derived antimicrobials to fight against multi-drug-resistant human pathogens. **3 Biotech**, v. 7, n. 3, p. 1-15, 2017.

SUBRAMANIAN, S. *et al.* Antimicrobial activity of some Essential oils and Extracts from Natural sources on Skin and Soft tissue infection causing microbes: An *In-vitro* Study. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 14, n. 7, p. 3603-3609, 2021.

SUMMER, K. *et al.* Out of control: The need for standardised solvent approaches and data reporting in antibiofilm assays incorporating dimethyl-sulfoxide (DMSO). **Biofilm**, v. 4, p. 100081, 2022.

SUNDARAM, D. *et al.* A comparative evaluation on antimicrobial effect of honey, neem leaf extract and sodium hypochlorite as intracanal irrigant: an *ex-vivo* study. **Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR**, v. 10, n. 8, p. ZC88, 2016.

SUNTARI, D. *et al.* Effectiveness test of neem gum (*Azadirachta indica*) solution against the viability of *Escherichia coli* and *Salmonella Typhimurium* (*in vitro*). **Jurnal Pangan dan Agroindustri**, v. 10, n. 1, 2022.

SUPRITHA, P.; RADHA, K. V. Estimation of phenolic compounds present in the plant extracts using high pressure liquid chromatography, antioxidant properties and its antibacterial activity. **Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research**, v. 52, n. 2, p. 321-326, 2018.

SURESH, G. *et al.* Antifungal fractions and compounds from uncrushed green leaves of *Azadirachta indica*. **Phytoparasitica**, v. 25, n. 1, p. 33-39, 1997.

SUSMITHA, S. *et al.* Phytochemical extraction and antimicrobial properties of *Azadirachta indica* (Neem). **Global journal of pharmacology**, v. 7, n. 3, p. 316-320, 2013.

TABAK, Y. P. *et al.* Incremental clinical and economic burden of suspected respiratory infections due to multi-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the United States. **Journal of Hospital Infection**, v. 103, n. 2, p. 134-141, 2019.

TACCONELLI, E. *et al.* Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 3, p. 318-327, 2018.

TAMBE, A. R., PAWAR, R. M., & DEOKAR, S. B. Evaluation of antibacterial and antifungal activity of various concentrations of *Azadirachta indica* (neem) against human pathogenic bacterial and fungal strains. **Asian Journal Of Multidisciplinary Studies**, v. 4, n. 3, p. 61–66, 2016.

TAMMA, P. D. *et al.* Infectious Diseases Society of America Guidance on the Treatment of AmpC  $\beta$ -Lactamase–Producing Enterobacterales, Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*, and *Stenotrophomonas maltophilia* Infections. **Clinical Infectious Diseases**, v. 74, n. 12, p. 2089-2114, 2022.

TANG, P. *et al.* BNT162b2 and mRNA-1273 COVID-19 vaccine effectiveness against the SARS-CoV-2 Delta variant in Qatar. **Nature medicine**, v. 27, n. 12, p. 2136-2143, 2021.

TAVARES, T. D. *et al.* Activity of specialized biomolecules against gram-positive and gram-negative bacteria. **Antibiotics**, v. 9, n. 6, p. 314, 2020.

TEMBE-FOKUNANG, E. A. *et al.* The potential pharmacological and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) in the drug development of phytomedicine. **Journal of Complementary and Alternative Medical Research**, v. 7, n. 1, p. 1-18, 2019.

TESSO, H. *et al.* Antibacterial activity and phytochemical screening of some important medicinal plants against human diarrheal pathogens in Adama city, Ethiopia. **Int J Microbiol Immunol Res**, v. 3, n. 3, p. 029-035, 2015.

THANASSI, D. G. *et al.* Surface organelles assembled by secretion systems of Gram-negative bacteria: diversity in structure and function. **FEMS microbiology reviews**, v. 36, n. 6, p. 1046-1082, 2012.

THI, M. T. T. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 22, p. 8671, 2020.

TIRUMALASETTY, J. *et al.* Antimicrobial activity of methanolic extracts of *Azadirachta indica*, *Rosmarinus officinalis* and *Lagenaria siceraria* leaves on some important pathogenic

organisms. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 4, p. 766-770, 2014.

TIRUPATIRAO, S. *et al.* Comparative analysis of anti-bacterial activity of medicinal plants. **International Journal of PharmTech Research**, v. 6, n. 1, p. 262-265, 2014.

TOMARAS, A. P. *et al.* Adaptation-based resistance to siderophore-conjugated antibacterial agents by *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 57, n. 9, p. 4197-4207, 2013.

TOOKE, C. L. *et al.*  $\beta$ -Lactamases and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. **Journal of molecular biology**, v. 431, n. 18, p. 3472-3500, 2019.

TORRES, A. *et al.* Challenges in severe community-acquired pneumonia: a point-of-view review. **Intensive care medicine**, v. 45, n. 2, p. 159-171, 2019.

UDE, J. *et al.* Outer membrane permeability: Antimicrobials and diverse nutrients bypass porins in *Pseudomonas aeruginosa*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 118, n. 31, p. e2107644118, 2021.

UPADHYAY, A. *et al.* Inhibiting microbial toxins using plant-derived compounds and plant extracts. **Medicines**, v. 2, n. 3, p. 186-211, 2015.

UZZAMAN, S. Pharmacological activities of neem (*Azadirachta indica*): A review. **Int J Pharmacogn Life Sci**, v. 1, p. 38-41, 2020.

VASANTHARAJ, S. *et al.* Phytochemical and antibacterial activity of Eucalyptus. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review & Research**, v. 21, n. 2, p. 237-239, 2013.

VATS, S.; MIGLANI, K. Synergistic antimicrobial effect of cow urine and *Azadirachta indica* on infectious microbes. **International journal of Pharmaceutical sciences and Research**, v. 2, n. 7, p. 1781, 2011.

VEESENMEYER, J. L. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* virulence and therapy: evolving translational strategies. **Critical care medicine**, v. 37, n. 5, p. 1777, 2009.

VIDAILLAC, C.; CHOTIRMALL, S. H. *Pseudomonas aeruginosa* in bronchiectasis: infection, inflammation, and therapies. **Expert Review of Respiratory Medicine**, v. 15, n. 5, p. 649-662, 2021.

VIJAYARAM, S. *et al.* Preliminary phytochemical screening, Antibacterial potential and GCMS analysis of two medicinal plant extracts. **Pakistan journal of pharmaceutical sciences**, v. 29, n. 3, 2016.

VORA, J. *et al.* Antibacterial and antioxidant strategies for acne treatment through plant extracts. **Informatics in Medicine unlocked**, v. 13, p. 128-132, 2018.

WANG, H. W. *et al.* New triterpenoids from the kernels of *Azadirachta indica*. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 3, n. 1, p. 33-37, 2013.

WHITMAN, W. B.; TRUST, B. M. **Bergey's manual of systematic bacteriology: The**

**Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria.** John Wiley & Sons; 2015.

WHO. **New report calls for urgent action to avert antimicrobial resistance crisis.** Joint News Release. 29 April 2019. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/detail/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis>. (Acessado em 20 de novembro de 2022).

WHO. **Relatório Global da OMS sobre Medicina Tradicional e Complementar.** Disponível online: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1217520/retrieve> (acessado em 15 de novembro de 2022).

WICK, J. Aspirin: a history, a love story. **The Consultant Pharmacist®**, v. 27, n. 5, p. 322-329, 2012.

WIJAYAWARDHANA, N. *et al.* Antimicrobial activity of a combination of three natural plant extracts and development of a herbal soap. **Pharma. Sci. Asia**, v. 48, n. 6, p. 523-534, 2021.

WILLIAMS, P. C. M. Potential of fosfomycin in treating multidrug-resistant infections in children. **Journal of paediatrics and child health**, v. 56, n. 6, p. 864-872, 2020.

WINN, J. R, W. C. *et al.* **Bacilos gram-negativos não fermentadores. Koneman Diagnostico Microbiológico, Texto e Atlas Colorido**, v. 6, p. 302-386, 2008.

XIN, X. F. *et al.* *Pseudomonas syringae*: what it takes to be a pathogen. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 5, p. 316-328, 2018.

YAMASAKI, R. B. *et al.* Isolation and purification of salannin from neem seeds and its quantification in neem and chinaberry seeds and leaves. **Journal of Chromatography A**, v. 447, p. 277-283, 1988.

YEHIA, H. M. Methanolic extract of neem leaf (*Azadirachta indica*) and its antibacterial activity against foodborne and contaminated bacteria on sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). **Am Eurasian J Agric Environ Sci**, v. 16, p. 598-604, 2016.

YERIMA, M. B. *et al.* Effect of neem extracts (*Azadirachta indica*) on bacteria isolated from adult mouth. **Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 20, n. 1, p. 64-67, 2012.

YIN, F. *et al.* Isolation and structure identification of the compounds from the seeds and leaves of *Azadirachta indica* A. Juss. **Journal of China Pharmaceutical University**, v. 36, p. 10-12, 2005.

ZHU, Y. *et al.* Genome-scale metabolic modeling of responses to polymyxins in *Pseudomonas aeruginosa*. **GigaScience**, v. 7, n. 4, p. giy021, 2018.

SHAMSUNNAHAR, M. *et al.* Evaluation of antibacterial activity of indigenous medicinal plants in Bangladesh against some selected pathogenic strains. **Pharmacology Online**, v. 1, p. 10-19, 2019.

SUBBU LAKSHMI, S.; CHELLADURAI, G.; SURESH, B. *In vitro* studies on medicinal plants used against bacterial diabetic foot ulcer (BDFU) and urinary tract infected (UTI)

causing pathogens. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 40, n. 3, p. 667-673, 2016.