



MINISTERIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO DELTA DO PARNAÍBA
COORDENAÇÃO DO CURSO DE BACHARELADO EM BIOMEDICINA

FRANCISCO EDUARDO CANUTO MARTINS

**ATIVIDADE BIOLÓGICA DA GOMA DO CAJUEIRO E SUA
DEGRADAÇÃO EM MODELO DE INFECÇÃO POR *E.coli* PRODUTORA DA
TOXINA DA SHIGA O157:H7**

PARNAÍBA – PI

2024

FRANCISCO EDUARDO CANUTO MARTINS

ATIVIDADE BIOLÓGICA DA GOMA DO CAJUEIRO E SEU DERIVADO EM
MODELO DE INFECÇÃO POR *E. coli* PRODUTORA DA TOXINA DA SHIGA O157:H7

Trabalho de conclusão de curso apresentado a
coordenação do Curso de Biomedicina da
Universidade Federal do Delta do Parnaíba, como
requisito à obtenção do título de Bacharelado em
Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros

PARNAÍBA – PI

2024

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Delta do Parnaíba

M386a Martins, Francisco Eduardo Canuto
Atividade biológica da goma do cajueiro e seu derivado em modelo de infecção por *E. coli* produtora da toxina da Shiga O157:H7. [recurso eletrônico] / Francisco Eduardo Canuto Martins. – 2024.
62 f.

TCC (Bacharel em Biomedicina) – Universidade Federal do Delta do Parnaíba, 2024.
Orientação: Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros.

1. Diarreia. 2. Goma do cajueiro. 3. Oligossacarídeos. 4. *Escherichia coli*. I. Título.

CDD: 616.3

FRANCISCO EDUARDO CANUTO MARTINS

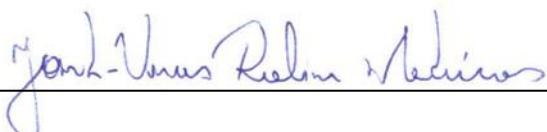
**ATIVIDADE BIOLÓGICA DA GOMA DO CAJUEIRO E SEU DERIVADO EM
MODELO DE INFECÇÃO POR *E. coli* PRODUTORA DA TOXINA DA SHIGA
O157:H7**

Trabalho de conclusão de curso apresentado a coordenação do Curso de Biomedicina da Universidade Federal do Delta do Parnaíba, como requisito à obtenção do título de Bacharelado em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros

APROVADA EM: 17/12/2024

BANCA EXAMINADORA



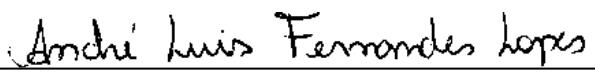
Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros (Orientador)

Universidade Federal do Delta do Parnaíba



MSc. Letícia de Sousa Chaves

Universidade Federal do Delta do Parnaíba



MSc. André Luís Fernandes Lopes

Universidade Federal do Delta do Parnaíba

“A Deus, pela força, sabedoria e fé que me acompanharam em cada etapa desta jornada. À minha família, pelo apoio incondicional e amor, e aos meus amigos, pela companhia e incentivo, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho!”

AGRADECIMENTOS

Agradecer primeiramente a **Deus** por ter me dado coragem, fé e forças para vencer essa jornada, sem ele nada disso seria o possível, como há 5 anos quando recebi uma promessa que iria entrar em uma faculdade e daria muito orgulho para as pessoas que me amam, realmente tudo aconteceu, como ele me prometeu. Então essa vitória não é para minha honra, mas sim para a dele!

Aos meus familiares, primeiramente quero agradecer aos meus tios **Francisco Canuto** e **Manoel Carlos Canuto** que me ajudaram financeiramente em Parnaíba, acreditando em meu sonho. A minha extraordinária mãe **Delaide Canuto** que sempre acreditou em mim e sempre esteve em oração pela minha vida, me dando conselhos e incentivando durante a minha jornada, sou muito grato pela sua vida e dizer que essa conquista é nossa mãe e também ao meu pai **Liduino Martins** pelo apoio e conselhos. Aos meus demais familiares **Conceição Ferreira**, **Davi José**, **Demir Mescouto**, **Lucia Ferreira**, **Maria Martins**, **Marilandia Martins** por sempre me incentivar a concluir meu curso dando palavras de conforto e coragem, muito obrigado.

Dedico essa conquista *in memoria* dos meus queridos e amados avós **Manoel Francisco Canuto** e **Maria Cleia Canuto** por terem me dado todo amor e criação do mundo, em especial minha avó que sempre sonhou com esse momento, desde do dia da aprovação, até meu primeiro jaleco até minha ida para Parnaíba esteve presente torcendo por mim. Infelizmente, não está mais aqui para ver a realização desse sonho, mas, tenho certeza que está vibrando de alegria no céu.

Ao meu querido orientador **Dr. Jand Venes Rolim Medeiros** quero expressar minha sincera gratidão pela oportunidade e de me acolher em seu laboratório de pesquisa. Sou extremamente grato, pois graças ao senhor tiver oportunidade de crescer academicamente e como futuro pesquisador.

Ao Laboratório da Inflamação e Gastroenterologia Translacional (LIGAT) quero agradecer a todos que fizeram parte do meu crescimento. A começar pela **Gabriella Pacheco** que foi minha inspiração para fazer parte do laboratório e me ensinou boa parte das coisas que sei hoje, muito obrigado. A **Letícia Chaves** quero expressar minha gratidão, foi graças a você que aprendi a ter mais responsabilidade e tive muita sorte em aprender com você, com toda certeza tens um impacto muito grande minha vida. Aos meus amigos de laboratório **Antônio**, **Beatriz**, **Gabriel**, **Gabrielle**, **Katriane**, **Sabrine** e **Vinícius** muito obrigado por tudo que vocês me proporcionaram, por muita das vezes arrancarem minhas melhores gargalhadas, eu estando

totalmente mal, vocês foram luz na minha vida, amo vocês. Agradeço os melhores pós-graduandos **Ana Patrícia, André, Andreza e Josivan** por todo auxilio durante o meu tempo no LIGAT, vocês foram essenciais na minha vida e, por fim, aos alunos de iniciação **Ana Vitória, Hémilly, Henrique, Mayza e Sarah** muito obrigado por terem ajudado no tempo dos experimentos.

Aos meus amigos que a graduação me presenteou **Aquiles, Ana Clara, Dalia, Danyela, Eline, Isaac, Henrique, Isabelle, Janyelson, Laiza, Maria, Rafaela, Ruth** muito obrigado por fazerem a jornada mais leve, sem vocês não teria conseguido, em especial meu amigo **Isaac** que me ajudou muito, se tornando companheiro nos meus momentos mais conturbados e a minha amiga **Ana Clara** que me ajudou muito durante a graduação sem ela também não teria conseguido. Também quero agradecer aos meus amigos que Parnaíba me presentou **Ana Clara, Bruno, Neguinha, Grazy, Ketully, Kleiton, Rafael, Renata Noleto, Rose, Sabrina, Sonia, Tino, Viviane, Vera**. Em especial a **Ana Clara, Kleiton, Renata e Tino**, por todo o conhecimento e apoio, fundamentais para a construção do meu futuro como biomédico.

Agradeço também aos meus professores **Anna Carolina, Giovanny, Karina e Loredana** por darem todo apoio durante a graduação e por serem responsáveis pela visão de mundo como futuro biomédico, certeza que não irei decepcionar vocês. Por fim, quero agradecer ao **CNPq** e a **UFDPar** pelos anos me ajudado com auxílio de bolsas na minha iniciação científica.

Muito obrigado a todos!

*“Deus não é homem, para que minta; nem
filho do homem, para que se arrependa;
porventura diria ele, e não o faria? Ou
falaria, e não o confirmaria?”*

Números 23:19

LISTA DE SIGLAS E ABREVIADURAS

ANOVA - Análise de Variância

ATR - Reflexão Total Atenuada

BIOTEC - Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia

CaCCs - Canais de Cloreto Ativados por Cálcio

CTFC - Condutância Transmembrana da Fibrose Cística

DAA - Diarreia Aquosa Aguda

DS - Diarreia Secretória

ECDA - *Escherichia coli* Difusamente Aderente

ECEA - *Escherichia coli* Enteroagregativa

ECEI - *Escherichia coli* Enteroinvasiva

ECEH - *Escherichia coli* Enterohemorrágica

ECEP - *Escherichia coli* Enteropatogênica

ECET - *Escherichia coli* Enterotoxigênica

E. coli - *Escherichia coli*

ECTS - *Escherichia coli* Produtora da Toxina da Shiga

ECVT - *Escherichia coli* Verotoxigênica

ELISA - Ensaio de Imunoabsorbância Ligado à Enzima

ESPGHAN - European Society for Pediatric Gastroenterology Hepatology an Nutrition

FOS - Frutooligossacarídeos

FTI-R - Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

Gb3 - Glicoesfingolipídeo Globotriaosilceramida

GC - Goma do Cajueiro

GOS - Galactooligossacarídeos

IG - Intestino Grosso

LAE - Lócus de Apagamento de Enterócitos

OLGs - Oligossacarídeos

OMS - Organização Mundial da Saúde

PAS - Ácido Periódico de Schiff

SHU - Síndrome Hemolítico-Urêmica

SOD - Superóxido Dismutase

TGI - Trato Gastrointestinal

TOS - Transgalactooligossacarídeos

TRO - Terapia de Reidratação Oral

TRI - Terapia de Reidratação Intravenosa

TxS - Toxina Shiga

UFC - Unidades Formadoras de Colônia

RESUMO

A diarreia é uma desordem gastrointestinal caracterizada por levar o paciente a realizar três ou mais evacuações diárias, sendo um importante problema de saúde pública devido à alta morbidade e mortalidade. Essa patologia pode estar associada a diversas condições, incluindo bactérias como *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (ECTS) no qual possui uma toxina capaz de causar danos ao hospedeiro como a diarreia. Dessa forma, o seu tratamento ainda é um desafio pois paciente precisa repor líquidos e eletrólitos perdidos durante esse processo infecioso, assim alternativas de tratamento vem sendo estudada, entre elas a goma do cajueiro (GC) que possui efeitos farmacológicos que podem auxiliar no tratamento da diarreia, além disso apresentam estruturas que podem sofrer modificações entre elas, a degradação originando um oligossacarídeo que estudos promissores demostram efeitos benéficos que podem tratar a diarreia e proteger contra patógenos. O objetivo desse trabalho é avaliar a atividade biológica da goma do cajueiro e de seu derivado, oligossacarídeo de GC (GCD48H) em modelo de infecção por *E. coli* produtora da toxina Shiga (O157:H7). Dessa forma após a obtenção da goma cajueiro e seu oligossacarídeo, na qual foi realizada a caracterização por *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) e titulação. Para a realização dos ensaios biológicos, os animais foram pré-tratados por gavagem, com salina e com os compostos GC (1.200 mg/kg) e GCD48H (0,8 mg/kg) por via oral durante 10 dias, em seguida foi inoculado por gavagem 5×10^{10} unidades formadoras de colônia em 100 µL durante 3 dias consecutivos onde realizou-se a coleta das fezes para verificar a presença de sangue, muco e diarreia. No dia seguinte os animais foram eutanasiados e amostras do ceco e outras porções do intestino grosso foram removidos e armazenados em condições adequadas para a realização da análise histológica para quantificação de mucinas neutras usando coloração de ácido periódico de Schiff (PAS) e análise de superóxido dismutase (SOD). Diante dos resultados, verificou-se um possível efeito protetor do GCD48H contra patógenos, observado tanto em nível macroscópico, evidenciado pelas análises de fezes, como microscópico, demonstrado pela análise de PAS. Além disso, houve um aumento significativo dos níveis de SOD em amostras intestinais de animais submetidos a infecção por ECTS. Deste modo, sugere-se que a GC48H possa atenuar parâmetros envolvidos na fisiopatologia da infecção intestinal por ECTS, sendo uma abordagem terapêutica promissora, necessitando de mais estudos para confirmar validar nossos achados.

Palavras – chave: Diarreia; Goma do Cajueiro; Oligossacarídeos; *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Diarrhea is a gastrointestinal disorder characterized by the occurrence of three or more bowel movements per day, representing a significant public health problem due to its high morbidity and mortality rates. This condition can be associated with various factors, including bacteria such as *Escherichia coli* producing Shiga toxin (STEC), which produces a toxin capable of causing damage to the host, such as diarrhea. As such, its treatment remains challenging, as patients need to replenish fluids and electrolytes lost during the infectious process. Therefore, alternative treatment strategies have been investigated, including the use of cashew gum (CG), which possesses pharmacological effects that may aid in the treatment of diarrhea. Furthermore, it contains structures that can undergo modifications, such as degradation, leading to the formation of an oligosaccharide. Promising studies have demonstrated that this oligosaccharide may have beneficial effects in treating diarrhea and protecting against pathogens. The objective of this study was to evaluate the biological activity of cashew gum and its derivative, the cashew gum oligosaccharide (GCD48H), in a *E. coli* O157:H7 Shiga toxin-producing infection model. Following the extraction of cashew gum and its oligosaccharide, characterization was performed using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and titration. For the biological assays, animals were pretreated by gavage with saline, CG (1,200 mg/kg), and GCD48H (0.8 mg/kg) orally for 10 days. Subsequently, the animals were inoculated by gavage with 5×10^{10} colony-forming units in 100 μ L for three consecutive days, during which fecal samples were collected to assess the presence of blood, mucus, and diarrhea. The following day, the animals were euthanized, and samples from the cecum and other portions of the colon were removed and stored under appropriate conditions for histological analysis, including quantification of neutral mucins using Periodic Acid-Schiff (PAS) staining and analysis of superoxide dismutase (SOD) activity. The results revealed a potential protective effect of GCD48H against pathogens, observed both macroscopically through fecal analysis and microscopically through PAS staining. Additionally, a significant increase in SOD levels was observed in intestinal samples from animals infected with STEC. These findings suggest that GCD48H may attenuate parameters involved in the pathophysiology of STEC-induced intestinal infection, representing a promising therapeutic approach. However, further studies are necessary to confirm and validate these findings.

Keywords: Diarrhea; Cashew Gum; Oligosaccharides; *Escherichia coli*.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 - Um aglomerado de bactérias <i>E. coli</i> no intestino humano, conforme revelado por um microscópio eletrônico de varredura	22
Figura 2 - A fisiopatologia do tráfego da toxina Shiga e da ação intracelular.....	23
Figura 3 - Representação esquemática de diferentes fontes de contaminação e transmissão da infecção por <i>Escherichia coli</i> produtora de toxina Shiga com base em vários fatores ambientais.	24
Figura 4 - Representação de um fragmento estrutural goma do cajueiro.....	28
Figura 5 - Fotografia mostrando a arvore do cajueiro (<i>Anacardium occidentale L</i>).....	28
Figura 6 - Polissacarídeo obtido da goma do cajueiro isolado e purificado.....	29
Figura 7 - Design Experimental da Infecção por ECTS	35
Figura 8 - Espectro de infravermelho da Goma do Cajueiro (GC) e seu derivado (GCD48H) pelo processo de Degradação de Smith	38
Figura 9 - Parâmetros caracteristicos da infecção pela ECTS e seus scores (Temperatura)	40
Figura 10 - Análise macroscópica das fezes por infecção pela ECTS	41
Figura 11 - Análise microscópica dos efeitos da GC e seu derivado (GCD48H) no ceco na infecção pela ECTS.	43
Figura 12 - Análise microscópica dos efeitos da GC e seu derivado (GCD48H) no Intestino grosso na infecção pela ECTS.....	44
Figura 13 - Efeito da GC e seu derivado (GCD48H) nos níveis Superóxido Dismutase (SOD) no ceco em camundongos infectados com ETCS.....	45
Figura 14 - Efeito da GC e seu derivado GCD48H) nos níveis Superóxido Dismutase (SOD) no Intestino grosso em camundongos infectados com ETCS.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Quantificação em porcentagem (%) de ácido urônicos presente no GCD48H derivados da GC	39
Tabela 2 - Gravidade da infecção pela ECTS e seus scores	39

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REFRENCIAL TEORICO	19
2.1 DIARREIA	19
2.2 CLASSIFICAÇÃO DA DIARREIA	20
2.2.1 Diarreia secretória.....	Erro! Indicador não definido.
2.2.2 Diarreia por <i>E.coli</i> produtora da toxina Shiga O157:H7	21
2.3 EPIDEMIOLOGIA DE DOENÇAS DIARREICAS.....	24
2.4 ALTERNATIVAS E INOVAÇÕES NO TRATAMENTE DE DOENÇAS DIARREICAS	25
2.5 GOMAS NATURAIS	26
2.5.1 Goma do Cajueiro	27
2.6 ATIVIDADE DOS OLIGOSSACARÍDEOS EM MODELO DE DIARRÉIA.....	30
3 OBJETIVOS	32
3.1 OBJETIVO GERAL.....	32
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
4 MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1 OBTEÇÃO DA GOMA DO CAJUEIRO.....	33
4.2 ISOLAMENTO DE OLIGOSSACARÍDEO DA GOMA DO CAJUEIRO.....	33
4.2.1 Degradação de Smith da Goma do Cajueiro	33
4.3 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER	33
4.4 QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE ÁCIDOS URÔNICOS PRESENTE NOS OLIGOSSACARÍDEOS DA GC POR MEIO DA TÉCNICA DE TITULAÇÃO.....	33
4.5 INDUÇÃO DA INFECÇÃO POR <i>E.coli</i> PRODUTORA DA TOXINA DA SHIGA O157:H7 EM CAMUNDONGOS BALB/c	34
4.5.1 Design Experimental	34
4.5.2 Indução da Diarreia	34
4.5.3 Critérios Utilizados na Análise do Score de Diarreia	35
4.5.4 Processamento Histológico.....	35
4.6 AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM GC E SEU DERIVADO NOS NÍVEIS DE SOD NA INFECÇÃO OCASIONADA PELA ECTS	36
4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	37
5 RESULTADOS.....	38
5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS OLGs OBTIDOS DA GC	38
5.2 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS E SCORE DA DIARREIA	39
5.3 EFEITOS DA GC E SEU DERIVADO NOS NÍVEIS DE MUCINA NO TECIDO INTESTINAL.....	42

5.4 AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM GC E SEUS DERIVADOS NOS NÍVEIS DE SOD NA INFECÇÃO OCASIONADA PELA ECTS	45
6 DISCUSSÃO	47
7 CONCLUSÃO.....	50
REFERÊNCIAS	51
ANEXOS	59
ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	60
ANEXO B - COMPROVANTE DE ACESSO - SISGEN DA GOMA DO CAJUEIRO.....	61
ANEXO C - REGISTRO NA PROPOPI.....	62

1 INTRODUÇÃO

A diarreia é uma desordem gastrointestinal de relevância para a saúde pública, caracterizada pela ocorrência de três ou mais evacuações diárias. Essa condição é uma das principais causas de morbidade e mortalidade, especialmente em crianças e idosos (Dawod; Crawford, 2021; Li *et al.*, 2021 Araújo *et al.*, 2020). Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) apontam que doenças diarreicas são uma das principais causas de morte entre crianças menores de cinco anos, com 443.832 óbitos registrados e 1,7 milhão de casos notificados diariamente (WHO, 2024). No Brasil, em 2024, já foram registrados 6.247.869 casos de diarreia, dos quais 882.168 ocorreram em crianças de 1 a 4 anos (Sivep, 2024).

Sua manifestação está associada a danos nas barreiras físicas e químicas do Trato Gastrointestinal (TGI), além de disfunções nas proteínas transportadoras de íons, resultando em um desequilíbrio no transporte de água e eletrólitos (Li *et al.*, 2021). A classificação da diarreia é um fator importante no diagnóstico e no tratamento. Ela pode ser categorizada de acordo com sua natureza (Ramamurthy, Kumari & Ghosh, 2022; Müllhaupt, 2002) ou com seu mecanismo de ação patológico (Stamm *et al.*, 2022; Burgers, Lindenberg & Bevis, 2020). Entre os microrganismos patogênicos responsáveis por quadros diarreicos, destaca-se a *Escherichia coli* (*E. coli*), uma bactéria gram-negativa facultativa, dentre as quais algumas cepas podem causar danos à parede intestinal, levando ao desenvolvimento da diarreia (Mueller & Tainter, 2023; Martinez-Medina, 2021; Kim, Lee & Kim, 2020). Entre os seus patótipos, merece atenção a produtora da toxina Shiga (ECTS), especialmente o subtipo O157:H7, associado a quadros graves como colite hemorrágica e síndrome hemolítico-urêmica (SHU) (Mueller & Tainter, 2023; Bautista-Trujillo *et al.*, 2022; Kim, Lee & Kim, 2020).

A infecção ocorre pela presença do patógeno em alimentos contaminados, resultando na destruição das microvilosidades intestinais e no aumento da secreção de fluidos, culminando em episódios de diarreia (Bhandari, Rout & Sedhai, 2023; Rodwell *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2017). Há ausência eficaz de terapia para diarreia, dessa forma o tratamento convencional inclui a terapia de reidratação oral (TRO) e intravenosa (TRI), ambas eficazes na reposição de líquidos e eletrólitos, prevenindo desidratação severa e óbitos (WHO, 2024; Feng *et al.*, 2022). Adicionalmente, a suplementação com zinco e uma alimentação rica em nutrientes complementam a TRO, contribuindo para minimizar os efeitos da desidratação (WHO, 2024; WHO, 2017). Contudo, há uma necessidade crescente por novas abordagens terapêuticas, incluindo produtos naturais. Desde a antiguidade, esses produtos, de origem vegetal e animal,

têm sido utilizados devido aos seus compostos bioativos, como polissacarídeos, que vêm ganhando destaque na pesquisa para o tratamento de diarréias, especialmente as gomas naturais (Chaves *et al.*, 2024; Jesus-Oliveira *et al.*, 2021; Araújo *et al.*, 2020).

As gomas naturais são polissacarídeos extraídos de sementes, algas e exsudatos de árvores, conhecidos por suas propriedades biocompatíveis, biodegradáveis e de baixo custo, além de amplas aplicações terapêuticas (Banás & Harasym, 2021; Araújo *et al.*, 2020). Entre elas, a goma do cajueiro (GC) tem recebido atenção por suas propriedades farmacológicas. Trata-se de um heteropolissacarídeo de alto peso molecular, composto majoritariamente por β -galactose (59-72%), com ramificações de glicose (6,4-13%), arabinose (4-5%), ramnose (3,2-4%), ácido glicurônico (4-10%), xilose (1%) e resíduos de açúcar (2%) (Nicolau *et al.*, 2019; Araújo *et al.*, 2021; De Paula *et al.*, 1998). Apresentando baixa viscosidade, a GC já demonstrou benefícios como atividade antidiarréica (Araújo *et al.*, 2015), protetora esofágica (Nicolau *et al.*, 2019) e gastroprotetora (Carvalho *et al.*, 2015).

Alguns derivados da GC vêm sendo estudados, como os oligossacarídeos (OLGs), probióticos naturais presentes em plantas, algas, microrganismos ou obtidos de hidrólise de polissacarídeos. Os OLGs possuem cadeias de 2 a 10 monossacarídeos com baixo grau de polimerização (Chen *et al.*, 2023; Cheong *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2021). Eles atuam como moduladores da microbiota intestinal, estimulando a produção de ácidos graxos de cadeia curta, fortalecendo o sistema imunológico e combatendo patógenos. Estudos sugerem que esses sacarídeos compartilham as propriedades bioativas da GC, ampliando suas possibilidades terapêuticas no tratamento de diarréias (Gao *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2021; Davani-Davari *et al.*, 2019).

Diante desse contexto e da base científica existente, o presente estudo objetiva avaliar a atividade biológica da goma do cajueiro e de seu derivado em modelo de infecção por *E. coli* produtora da toxina Shiga (O157:H7).

2 REFRENCIAL TEORICO

2.1 DIARREIA

A diarreia é uma condição patológica comum em grande parte da população mundial, caracterizada pela ocorrência de três ou mais evacuações diárias. Trata-se de um grave problema de saúde pública devido à sua alta taxa de morbidade e mortalidade, especialmente entre crianças e idosos (Dawod; Crawford, 2021; Li *et al.*, 2021 Araújo *et al.*, 2020). Essa disfunção intestinal pode ser um sintoma associado a diversas condições, incluindo infecções bacterianas, virais ou parasitárias, má absorção de carboidratos, doenças crônicas e efeitos colaterais de medicamentos (Li *et al.*, 2021; Senderovich; Vierhout, 2021). Sua manifestação clínica decorre de danos às barreiras físicas e químicas do intestino, além de alterações nas proteínas transportadoras de íons, resultando em um desequilíbrio no transporte de água e eletrólitos no TGI (Li *et al.*, 2021).

Os principais sintomas incluem evacuações frequentes, fezes moles, desconforto abdominal e, em muitos casos, desidratação devido à perda acelerada de líquidos e nutrientes. A condição pode ser desencadeada pelo consumo de alimentos contaminados com bactérias, fungos, parasita, vírus ou pelo uso de certos medicamentos, os quais alteram a microbiota intestinal (Senderovich & Vierhout, 2021; Da Costa *et al.*, 2020). Pacientes acometidos com essa desordem frequentemente apresentam perda rápida de peso e desidratação, causada por danos à mucosa intestinal. Assim, a reposição de líquidos e eletrólitos é essencial no manejo dessa condição (Feng *et al.*, 2022; Da Costa *et al.*, 2020).

Dentre os microrganismos associados à diarreia, alguns se destacam como patógenos importantes, capazes de causar diferentes tipos de diarreia: não inflamatória, inflamatória e invasiva. Esses patógenos podem lesar o tecido intestinal, interferindo nos processos de absorção e secreção, o que contribui para o surgimento da diarreia (Chavda *et al.*, 2024). Entre os agentes causadores mais relevantes estão *Escherichia coli* (e seus subtipos), *Rotavírus*, *Vibrio cholerae*, *Shigella spp.*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Clostridium difficile*, *Salmonella*, *Campylobacter* e outros produtores de citotoxinas (Chavda *et al.*, 2024; Akhondi & Simonsen, 2023; Ramamurthy, Kumari & Ghosh, 2022)

2.2 CLASSIFICAÇÃO DA DIARREIA

A classificação clínica da diarreia é essencial para orientar de forma eficaz o diagnóstico e o tratamento da doença, permitindo intervenções mais adequadas. Clinicamente, a diarreia pode ser dividida em quatro tipos principais: diarreia aquosa aguda (DAA), que apresenta duração de algumas horas a poucos dias; disenteria, caracterizada pela presença de sangue nas fezes; diarreia persistente, que dura entre 7 e 14 dias ou mais e diarreia crônica, que se prolonga por um período superior a 30 dias (Akhondi & Simonsen, 2023; Ramamurthy, Kumari & Ghosh, 2022; Müllhaupt, 2002).

Além disso, a diarreia pode ser classificada conforme seu mecanismo patogênico de ação, abrangendo diferentes causas e manifestações. Entre essas categorias estão a disfunção de motilidade intestinal, que altera o trânsito normal do intestino; a iatrogênica, associada ao uso de medicamentos; a osmótica, decorrente do acúmulo de substâncias osmoticamente ativas no lúmen intestinal; a inflamatória, causada por processos inflamatórios na mucosa intestinal e a secretória, caracterizada pelo aumento da secreção de água e eletrólitos pelo intestino. De acordo com essas classificações, a diarreia pode ser descrita como aquosa, sanguinolenta ou gordurosa, dependendo de suas características clínicas (Stamm *et al.*, 2022; Burgers, Lindenberg & Bevis, 2020).

2.2.1 Diarreia secretora

A diarreia secretora (DS) é caracterizada por ser aquosa, indolor e acompanhada de uma grande perda de líquidos. Sua ocorrência é atribuída a diversos fatores, como a má absorção de ácidos biliares, colite, distúrbios endócrinos e algumas infecções acarretadas por microrganismos (Nguyen *et al.*, 2024; Burgers; Lindberg; Bevis, 2020; Bhandari; Burakoff, 1995). Em casos graves, especialmente em populações vulneráveis, como crianças e idosos, a DS pode levar a complicações como desnutrição, infecção intestinal e até mesmo a óbito, sendo a segunda principal causa de morte entre essas faixas etárias no mundo (Qu *et al.*, 2023; Rudan *et al.*, 2013; Hu *et al.*, 2018).

O mecanismo patogênico dessa condição está relacionado ao aumento da secreção de fluidos no intestino delgado, que possui grande capacidade de processamento de volumes de líquidos. Esse processo resulta na superativação da secreção transepitelial de cloreto (Cl^-). No entanto, tal capacidade se torna uma desvantagem quando há um estímulo prosecretor potente, sobrecarregando a estrutura anatômica responsável pela absorção de líquidos (Keely & Barrett,

2022; Akrimajirachoote *et al.*, 2020). O transporte excessivo de íons Cl⁻ ocorre por meio do cotransportador Na⁺/K⁺/2Cl⁻ (NKCC1) nas células epiteliais, com o auxílio do gradiente de sódio (Na⁺) gerado pela Na⁺/K⁺-ATPase e pelos canais de potássio (K⁺) localizados na membrana basolateral. Esse processo culmina na secreção de cloreto e água para o lúmen intestinal, agravando a perda de líquidos característica da DS (Tang *et al.*, 2024; Qu *et al.*, 2023; Akrimajirachoote *et al.*, 2020).

Os principais canais de Cl⁻ que permitem a passagem de fluidos pela membrana apical são os canais de cloreto ativados por cálcio (CaCCs) e o regulador de condutância transmembrana da fibrose cística (CTFC). Esses canais desempenham um papel central na regulação da secreção de cloreto no intestino. Enterotoxinas bacterianas, produzidas por alguns patógenos, são frequentemente responsáveis por casos de DS, induzindo a secreção ativa de Cl⁻ e resultando em diarréias aquosas (Qu *et al.*, 2023; Keely & Barrett, 2022). Entre os patógenos produtores de toxinas que desencadeiam esse tipo de diarréia, destacam-se *Vibrio cholerae*, *Klebsiella* spp., *Shigella* spp., *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*, sendo esta última a mais comum em todo o mundo. Dentre os subtipos de *E. coli*, a enterotoxigênica (ECET), a verotoxigênica (ECVT) e a produtora de toxina Shiga (ECTS), apresentam relevância, uma vez que estão relacionadas ao aumento significativo de casos de DS globalmente (Chavda *et al.*, 2024; Akhondi & Simonsen, 2023; Afum *et al.*, 2022).

2.2.2 Diarreia por *E.coli* produtora da toxina Shiga O157:H7

A *E.coli* (**Figura 1**) é uma bactéria em formato de bastonete (bacilo), gram-negativa, anaeróbica facultativa, pertencente à família Enterobacteriaceae. Ela faz parte da microbiota intestinal normal e desempenha um papel mutualístico com o hospedeiro desde o nascimento, sendo considerada um microrganismo comensal inofensivo na maioria dos casos (Pokharel; Dhakal; Dozois, 2023; Martinez-Medina, 2021; Fatima; Azis, 2019). No entanto, em indivíduos saudáveis que apresentam danos nas barreiras físicas, anatômicas ou fisiológicas, ou em pacientes imunossuprimidos, *E. coli* pode se tornar um patógeno oportunista. Suas cepas patogênicas podem causar infecções sistêmicas graves, incluindo diarréia (Mueller; Tainter, 2023; Martinez-Medina, 2021; Kim; Lee; Kim, 2020).

Figura 1 Um aglomerado de bactérias *E. coli* no intestino humano, conforme revelado por um microscópio eletrônico de varredura



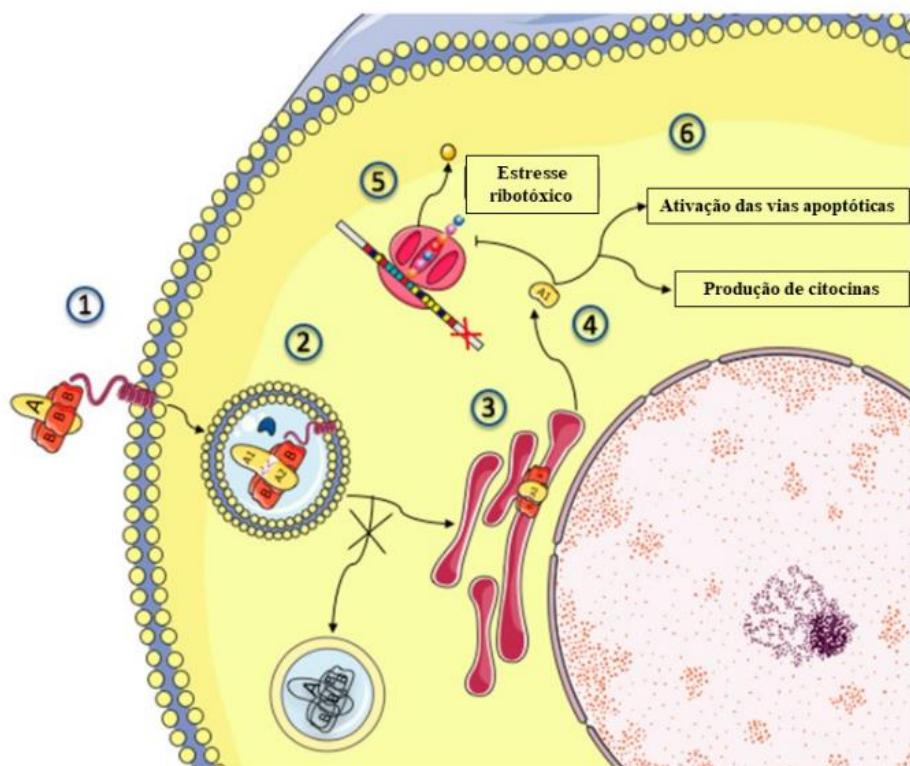
Fonte: Callaway, 2012

As cepas patogênicas intestinais de *E. coli* são descritas com base em seus patótipos, levando em consideração manifestações clínicas, mecanismos de infecção, tropismo tecidual, interações com células hospedeiras e fatores de virulência. Esses patótipos incluem seis grupos, dentre os quais enterotoxigênica, enteropatogênica (ECEP), enteroaggregativa (ECEA), enteroinvasiva (ECEI), difusamente aderente (ECDA) e produtora de toxina Shiga, também denominada verocitoxigênica ou entero-hemorrágica (ECEH) (Mueller & Tainter, 2023; Pokharel, Dhakal & Dozois, 2023; Kim, Lee & Kim, 2020). Dentre essas, destaca-se a ECTS, que inclui mais de 200 sorotipos capazes de produzir a toxina Shiga (TxS). O sorotipo O157:H7 é particularmente relevante, pois carrega um plasmídeo (pO157) associado à produção de uma potente toxina formadora de poros. Essa cepa tem sido associada a colite hemorrágica, SHU e diarreia sanguinolenta, sendo apontada como um grande problema de saúde pública global (Kim, Lee & Kim, 2020; Bautista-Trujillo *et al.*, 2022; Getaneh *et al.*, 2021).

A Toxina a shiga (TxS) é um importante fator de virulência da ECTS, contribuindo para o desenvolvimento de patologias graves que podem levar o paciente a óbito (Rodwel *et al.*,

2022; Getaneh *et al.*, 2021; Fatima; Azis, 2019). Trata-se de uma toxina do tipo AB5 (**Figura 2**), composta por duas subunidades funcionais, a subunidade A, que é responsável pela atividade citotóxica, e a subunidade B, que se liga a receptores celulares do hospedeiro, como o glicoesfingolípídeo globotriaosilceramida (Gb3), encontrado em várias células humanas (Biernbaum; Kudva, 2022; Lee; Jeong; Lee, 2021; Joseph *et al.*, 2020). A TxS possui duas formas antigênicas principais e seus respectivos subtipos: TxS1 (TxS1a, TxS1c e TxS1d) e TxS2 (TxS⁺2a a TxS2g). Esses tipos estão diretamente associados à gravidade das doenças causadas pela toxina. A TxS2, por exemplo, está relacionada a casos mais graves, enquanto os subtipos de TxS1 apresentam toxicidades variáveis que influenciam os sintomas nos pacientes acometidos (Rodwel *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2022; Hwang *et al.*, 2021).

Figura 2 - A fisiopatologia do tráfego da toxina Shiga e da ação intracelular

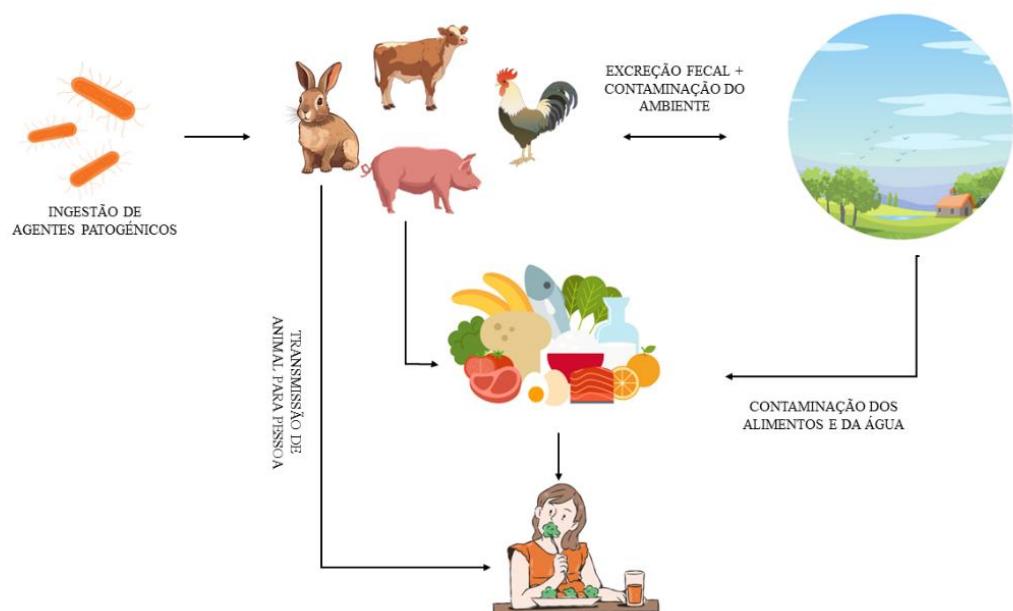


Fonte: Adaptado de Joseph *et al.*, 2020

As ECTS frequentemente estão presentes em alimentos (**Figura 3**) contaminados e aderem à mucosa intestinal, provocando o desaparecimento das microvilosidades, um processo conhecido como lócus de apagamento de enterócitos (LAE). Esse fenômeno é promovido pela secreção de metaloproteases da ECTS, que causam danos à barreira intestinal ao se multiplicar no local (Travert *et al.*, 2021; Xi *et al.*, 2020; Lemaignen *et al.*, 2013). A bactéria libera TxS,

que entram em contato com o hospedeiro por meio da interação com os receptores Gb3. Essas toxinas são internalizadas por endocitose e atravessam as células epiteliais do órgão alvo (**Figura 2**). A subunidade A exerce efeitos citotóxicos, enquanto a subunidade B se liga ao receptor Gb3, danificando células vasculares, renais e intestinais. Isso pode levar a doenças gastrointestinais e renais, como a SHU, além de diarreias secretórias (Matuzzsk *et al.*, 2023; Mueller & Tainter, 2023; Travert *et al.*, 2021).

Figura 3 - Representação esquemática de diferentes fontes de contaminação e transmissão da infecção por *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga com base em vários fatores ambientais.



Fonte: Adaptado de Hwang *et al.*, 2021.

A DS provocada pela ECTS ocorre devido à adesão do patógeno à mucosa intestinal, estimulando uma intensa secreção de fluidos no intestino delgado. Esse processo pode gerar quadros que variam de diarreia leve a grave, com ou sem a presença de sangue. Outros sintomas comuns incluem febre, cólicas abdominais, vômitos e desidratação, tornando a condição especialmente perigosa em grupos vulneráveis (Bhandari, Rout & Sedhai, 2023; Rodwel *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2017).

2.3 EPIDEMIOLOGIA DE DOENÇAS DIARREICAS

As doenças diarreicas estão entre as principais causas de infecção intestinal e constituem uma das maiores causas de mortalidade no mundo, especialmente entre crianças menores de

cinco anos. Esse grupo etário representa cerca de 63% da carga global da doença, ficando atrás apenas das doenças respiratórias, o que torna as doenças diarreicas um grande desafio para a saúde pública (WHO, 2024; Rawashdeh *et al.*, 2022; Da Costa *et al.*, 2020). Entre os principais agentes causadores dessa patologia destacam-se *Clostridium botulinum* (botulismo), *Campylobacter jejuni* (gastroenterite por *Campylobacter*), *Vibrio cholerae* (cólera), *Escherichia coli* (particularmente a cepa O157 produtora de toxina Shiga), *Salmonella* spp. (Salmonelose), *Shigella* spp. (Shigelose) e *Staphylococcus aureus* (intoxicação alimentar estafilocócica) (Chavda *et al.*, 2024; Ramamurthy, Kumari & Ghosh, 2022; Ugboko *et al.*, 2020).

Anualmente, as doenças diarreicas causam a morte de aproximadamente 443.832 crianças, sendo a segunda principal causa de óbitos em menores de cinco anos. Além disso, mais de 1,7 milhões de casos de diarreia infantil são reportados diariamente, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 2024). No Brasil, em 2024, foram registrados 6.247.869 casos de diarreia, dos quais 882.168 ocorreram em crianças de 1 a 4 anos (Sivep, 2024).

As principais causas dessa condição incluem desnutrição, consumo de água contaminada por fezes humanas, falta de higiene adequada e infecções por microrganismos, como *E. coli* (WHO, 2017).

2.4 ALTERNATIVAS E INOVAÇÕES NO TRATAMENTO DE DOENÇAS DIARREICAS

Indivíduos acometidos por essa desordem necessitam de reposição de água e eletrólitos devido à significativa perda de líquidos causada pelos danos provocados por microrganismos (WHO, 2017). Nesse contexto, as principais alternativas de tratamento incluem a TRO e a TRI, que auxiliam na recuperação do paciente e evitam o desfecho fatal (WHO, 2024; Feng *et al.*, 2022; Rawashdeh *et al.*, 2022). Além disso, terapias adjuvantes podem ser incorporadas à TRO, como a suplementação de zinco e a manutenção de uma dieta rica em nutrientes. Essas medidas contribuem para mitigar os efeitos da desidratação e aceleram o processo de recuperação (WHO, 2024; WHO, 2017).

A OMS recomenda medidas acessíveis e eficazes para o tratamento da diarreia, como o uso do soro caseiro, uma mistura de água potável, sal e açúcar. Esse método de baixo custo auxilia na reposição de água e eletrólitos perdidos durante a diarreia. Além disso, a suplementação com zinco pode reduzir os episódios de diarreia em até 25% e diminuir o volume das fezes em cerca de 30%. A manutenção de uma alimentação rica em nutrientes também é

fundamental, especialmente o leite materno, que fortalece o organismo infantil. Contudo, destaca-se a necessidade de desenvolver abordagens terapêuticas inovadoras e promissoras, incluindo o uso de produtos naturais para ser uma possível alternativa do tratamento para diarreia (Muhlen; Dersch, 2020; WHO, 2017; Araújo *et al.*, 2015).

Os produtos naturais têm sido utilizados desde a antiguidade no tratamento de diversas patologias, incluindo a diarreia (Da Costa *et al.*, 2020). Esses produtos demonstram múltiplos benefícios, como menores efeitos colaterais quando comparados aos medicamentos convencionais, o que tem incentivado a comunidade científica a explorar seu potencial terapêutico (Anjum *et al.*, 2023; Patel, 2023; Negi *et al.*, 2021). Provenientes de fontes vegetais e animais, os produtos naturais contêm constituintes bioativos, como alcaloides, flavonoides, terpenoides e polissacarídeos. Estes últimos, derivados de microrganismos, plantas e animais, têm atraído atenção como alternativas terapêuticas para o tratamento de diarréias (Yang *et al.*, 2022; De Jesus Oliveira *et al.*, 2021; Xi *et al.*, 2021).

Entre os polissacarídeos, as gomas naturais chamam à atenção devido suas propriedades incluírem a regulação da microbiota intestinal e a proteção da mucosa contra danos. Estudos recentes reforçam o potencial desses bioproductos como uma nova alternativa para o manejo de diarréias, abrindo caminhos para o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes e seguros (Chaves *et al.*, 2024; De Oliveira *et al.*, 2023; Araújo *et al.*, 2020).

2.5 GOMAS NATURAIS

As gomas naturais são polissacarídeos extraídos de sementes, algas ou exsudatos de árvores, amplamente reconhecidos por suas diversas propriedades farmacológicas. Esses polímeros são biocompatíveis, biodegradáveis, possuem capacidade para sofrer modificações químicas, apresentam baixo custo e não oferecem riscos significativos, o que os torna versáteis em aplicações terapêuticas e farmacêuticas (Banás; Harasym, 2021; Araújo *et al.*, 2020; Ahmad *et al.*, 2019). Esses compostos apresentam cadeias hidrofílicas, ramificadas ou lineares, de carboidratos com altos pesos moleculares e são altamente solúveis em água, mas possuem baixa solubilidade em óleos e solventes orgânicos devido às suas propriedades físico-químicas (Nehra *et al.*, 2022; Sari; Ferreira; Cruz, 2022; Jamila *et al.*, 2020).

Esse biopolímero tem ganhado destaque crescente em estudos científicos por suas propriedades físico-químicas. Durante a hidrólise, produz açúcares como arabinose, galactose, glicose, manose, ramnose, ácido glucurônico e ácido galacturônico (Nehra *et al.*, 2022; Badwaik *et al.*, 2020; Jamila *et al.*, 2020). Suas aplicações abrangem o tratamento de condições como

diarreia, cicatrização de feridas, febre, resfriado, tosse e distúrbios gastrointestinais, incluindo úlcera gástrica. Além disso, as gomas naturais possuem propriedades antioxidantes, citotóxicas, antimicrobianas e antiagregantes plaquetárias, ampliando seu potencial terapêutico (Jamila *et al.*, 2020; Araújo *et al.*, 2020; Ahmad *et al.*, 2019).

As gomas podem ser classificadas em diferentes categorias, incluindo polissacarídeos extraídos de bactérias, como goma gelana, dextrana e xantana; vegetais, como goma guar, goma de alfarroba e pectina; gomas de árvores, incluindo arábica, cajueiro, angico-vermelho, karaya, tragacanto, ghatti e kondagogu; e gomas extraídas de algas marinhas, como alginato, carragenina e ágar (Ahmad *et al.*, 2019; Araújo *et al.*, 2015; Chaves *et al.*, 2024). Algumas, como goma guar, arábica, tragacanto e xantana, são amplamente utilizadas comercialmente (Nehra *et al.*, 2022; Banás; Harasym, 2021; Ahmad *et al.*, 2019).

Recentemente, pesquisadores têm destacado o potencial de novas gomas, como a GC, devido às suas propriedades farmacológicas promissoras. Esse interesse reforça o papel das gomas naturais como fontes valiosas para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas inovadoras (Chaves *et al.*, 2024).

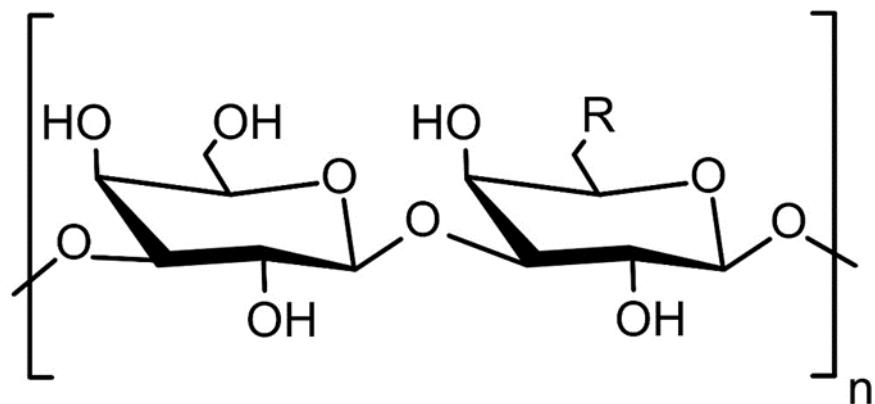
2.5.1 Goma do Cajueiro

A *Anacardium occidentale* L. (**Figura 5**), popularmente conhecida como cajueiro, é a espécie mais reconhecida do gênero *Anacardium* e pertence à família Anacardiaceae, sendo amplamente encontrada nas regiões Norte e Nordeste do Brasil (Silva *et al.*, 2024; Silva *et al.*, 2022; Sancho *et al.*, 2007). Estudos têm demonstrado que o cajueiro possui propriedades antimicrobianas, antioxidantes (Trevisan *et al.*, 2006), anti-inflamatórias (Carvalho *et al.*, 2011) e gastroprotetoras (Carvalho *et al.*, 2015). Além de sua relevância medicinal, o cajueiro desempenha um papel importante na economia brasileira, contribuindo para a geração de empregos e arrecadação de impostos por meio da produção industrializada de seus frutos e pseudofrutos (Silva *et al.*, 2023; Salehi *et al.*, 2019; Sancho *et al.*, 2007).

A GC é um exsudato obtido da árvore *Anacardium occidentale* L., considerado um heteropolissacarídeo complexo de alto peso molecular. Sua estrutura é ramificada, com uma cadeia principal composta majoritariamente por β-galactose (61%) e ramificações contendo glicose (11-14%), arabinose (4-6%), ramnose (3,2-4%), ácido glicurônico (4,7-6,3%), xilose (1%) e resíduos de açúcar (2%) (**Figura 4**) (Araújo *et al.*, 2012; De Paula *et al.*, 1998). Esse composto apresenta baixa viscosidade e, desde a antiguidade, o exsudato tem sido amplamente utilizado por comunidades locais para tratar diversas doenças, especialmente as

gastrointestinais, como a diarreia (Moraes *et al.*, 2020; De Miranda *et al.*, 2019; Araújo *et al.*, 2015).

Figura 4 - Representação de um fragmento estrutural goma do cajueiro



Fonte: Chaves, 2020.

Figura 5 - Fotografia mostrando a arvore do cajueiro (*Anacardium occidentale L*)



Fonte: Autoria própria, 2024

O caju é um pseudofruto originado do cajueiro, enquanto o fruto verdadeiro dessa planta é a castanha. Apesar de seus subprodutos, incluindo GC, serem frequentemente subutilizados, esses materiais têm se tornado foco de crescente interesse científico (Dheeraj *et al.*, 2023; Silva *et al.*, 2021; Sousa *et al.*, 2021). O pseudofruto destaca-se por seu elevado valor nutricional, alto teor de fibras e potencial terapêutico no tratamento de condições como obesidade e úlceras gástricas (Dheeraj *et al.*, 2023). Além disso, estudos têm demonstrado sua atividade antitumoral, que ainda está sendo amplamente investigada (Ribeiro *et al.*, 2021). Diversos derivados do pseudofruto e do fruto verdadeiro são comercializados, como refrigerantes, sucos, amêndoas, doces, polpas e o líquido da castanha (Silva *et al.*, 2021).

A GC (**Figura 6**) tem se mostrado uma alternativa terapêutica promissora devido às suas atividades antimicrobianas (Torquato *et al.*, 2004, Campos *et al.*, 2012), anti-inflamatórias (Schirato *et al.*, 2006), antiulcerogênicas (Carvalho *et al.*, 2015) e por possuir propriedades adesivas aos tecidos se tornando uma alternativa terapêuticas para diversas patologias. Com isso a GC possui características reológicas, na qual há semelhanças com vários polímeros sintéticos tornando-se aplicável na indústria, devido suas propriedades mecânicas e de biodegradabilidade (Nicolau *et al.*, 2019; Araújo *et al.*, 2015; Araújo *et al.*, 2012). Além disso, suas propriedades adesivas aos tecidos reforçam seu potencial para aplicação no tratamento de diversas patologias.

Figura 6 - Polissacarídeo obtido da goma do cajueiro isolado e purificado



Fonte: Chaves, 2024

Há outras gomas que compartilham semelhanças com a GC, como as gomas guar, arábica, gelana, tamarindo e xantana. Essas gomas apresentam efeitos semelhantes contra várias manifestações clínicas. Dessa forma, a GC tem demonstrando ótimos resultados, especialmente no TGI. Estudos indicam que a GC forma uma camada adesiva sobre a mucosa tecidual, oferecendo benefícios como atividade antidiarreica (Araújo *et al.*, 2015), proteção esofágica (Nicolau *et al.*, 2019) e efeitos gastroprotetores (Carvalho *et al.*, 2015). Assim, a GC tem sido amplamente estudada, especialmente seus derivados e suas aplicações bioativas, como os OLGs (Silva *et al.*, 2021; Sousa *et al.*, 2021).

2.6 ATIVIDADE DOS OLIGOSSACARÍDEOS COMO ALTERNATIVA DE TRATAMENTO DE DIARRÉIA POR *E.Coli* TOXINA SHIGA O157:H7

Os OLGs são parabióticos presentes na natureza e desempenham um papel importante nas células humanas. Eles pertencem à classe dos sacarídeos oligoméricos, compostos por 2 a 10 monossacarídeos, ligados em cadeias retas ou ramificadas e possuem um baixo grau de polimerização (Chen *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2021). Esses OLGs podem ser encontrados em plantas, algas marinhas e microrganismos, especialmente em bactérias filamentosas da ordem Actinomycetales, além de serem obtidos por meio da hidrólise de polissacarídeos (Cheong *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2021).

Determinados OLGs, quando presentes em quantidade adequada, são fundamentais para a regulação da microbiota intestinal. Dessa forma, os hidrolisados derivados de polissacarídeos têm se tornado uma escolha promissora como probióticos devido às suas propriedades benéficas (Gão *et al.*, 2023; Wu *et al.*, 2020). Dentre os probióticos benéficos à saúde, destacam-se os frutooligossacarídeos (FOS), galactooligossacarídeos (GOS) e transgalactooligossacarídeos (TOS), além dos microrganismos dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*. Um estudo publicado pela European Society for Pediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) demonstrou que o uso de probióticos, como *Saccharomyces boulardii* e *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG ATCC53103, no tratamento de diarréias agudas em crianças, assim como as fibras alimentares, têm se mostrado moduladores eficazes da microbiota intestinal. Tais fibras, quando fermentadas pela microbiota, produzem ácidos graxos de cadeia curta que estimulam o sistema imune inato contra microrganismos patogênicos (Li *et al.*, 2021; Davani-Davari *et al.*, 2019).

Esses compostos podem ser originados de polissacarídeos, já que apresentam açúcares em suas estruturas (Davani-Davari *et al.*, 2019). Estudos de Precup e colaboradores (2022) e Song e colaboradores (2023) mostram que os OLGs contêm açúcares como glicose, xilose e arabinose, componentes também presentes na GC. Além disso, esses OLGs têm demonstrado benefícios à saúde, incluindo proteção contra doenças cardiovasculares, diabetes, obesidade, além de possuírem atividades imunomoduladoras (Cheon, Li, Zhong, 2022), antioxidantes (Wang *et al.*, 2022) e antimicrobianas, inibindo patógenos de origem alimentar e impedindo sua adesão à mucosa intestinal (Liu *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2021).

A literatura também relata que os OLGs competem com os alvos naturais desses patógenos, impedindo infecções bacterianas devido às suas propriedades anti-adesivas, especialmente contra bactérias enteropatogênicas no trato intestinal (Verkhnyatskaya *et al.*, 2021; Douëllou *et al.*, 2017). Assim, as propriedades da GC, que apresentam efeitos semelhantes, podem torná-la uma alternativa terapêutica eficaz para o tratamento da diarreia.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade biológica da goma do cajueiro natural e seu oligossacarídeo da goma em modelo de infecção intestinal por *E. coli* produtora da toxina da Shiga.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtenção, isolamento e purificação da GC;
- Produção do oligassarídeo a partir da GC, através da técnica de degradação;
- Realizar a caracterização físico-química do Oligossacarídeo (GCD48H) por FTI-R e Titulação polimérica;
- Analisar a atividade farmacológica da GC e GCD48H induzida pela bactéria ECTS O157:H7;
- Avaliar os parâmetros diarreicos;
- Quantificar a proporção de mucinas aderidas a mucosa intestinal em animais com infecção ocasionada pela ECTS através da técnica histoquímica de ácido periódico de Schiff (PAS);
- Avaliar atividade antioxidante de GC e GCD48H, através da dosagem de superóxido dismutase (SOD).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DA GOMA DO CAJUEIRO

As amostras brutas dos polissacarídeos foram obtidas pelo Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia (BIOTEC) da Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Parnaíba-PI. O exsudato da goma foi adquirido a partir do tronco da árvore do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) proveniente do município de Ilha Grande do Piauí localizado na Planície Litorânea Piauiense.

4.2 ISOLAMENTO DE OLIGOSSACARÍDEO DA GOMA DO CAJUEIRO

4.2.1 Degradação de Smith da Goma do Cajueiro

A goma (10 g) foi dissolvida em uma solução de NaIO₄ (500 mL) a 0,25M mantidos por 48h (GCD48) a 4 °C no escuro. Transcorrido esse tempo, foi adicionado 15 mL de etilenoglicol, seguido de diálise por 24h e foi adicionado borohidreto de sódio (3,5 g), mantida a temperatura ambiente por 24 horas. Em seguida foi adicionado ácido acético, seguido de diálise por mais 24h. Por fim, foi adicionado H₂SO₄ 0,5M por 24h em temperatura ambiente. As soluções foram neutralizadas com NaOH, dialisadas, precipitadas em etanol e secas sob fluxo de ar quente.

4.3 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

Para observar os grupos funcionais presentes na GC e OLGs (GDC48), foi realizada a análise por meio da espectroscopia no infravermelho com transformada d Fourier (FTI-R) (SHIMADZU IRAffinity-1S) (modelo 8300) entre 400 e 6000 cm⁻¹, usando a técnica de reflexão total atenuada (ATR).

4.4 QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE ÁCIDOS URÔNICOS PRESENTE NO OLIGOSSACARÍDEO DA GC POR MEIO DA TÉCNICA DE TITULAÇÃO

A princípio a GC foi protonada a resina catiônica em HCl 0,98M (processo realizado em média 5 vezes para garantir a passagem do ácido pela resina). Em seguida, o pH foi ajustado para 6,0

por meio de lavagem com água ultrapura. Foi utilizado 100 mg de cada oligossacarídeo dissolvido em 20 mL de água ultrapura e colocada em agitação por 2 horas em média para melhor diluição. O procedimento foi realizado em triplicata, para garantir a estatística correta, sendo o pH inicial dos compostos mensurados antes de iniciar o processo. Utilizou-se NaOH 0,05M para titulação da solução com adição de 25 µL até chegar ao ponto de viragem da curva e posterior estabilidade dos valores, por volta de pH 10. Em seguida, o volume de NaOH utilizado durante o processo foi calculado no programa OriginPro 8.5.

4.5 INDUÇÃO DA INFECÇÃO POR *E.coli* PRODUTORA DA TOXINA DA SHIGA O157:H7 EM CAMUNDONGOS BALB/c.

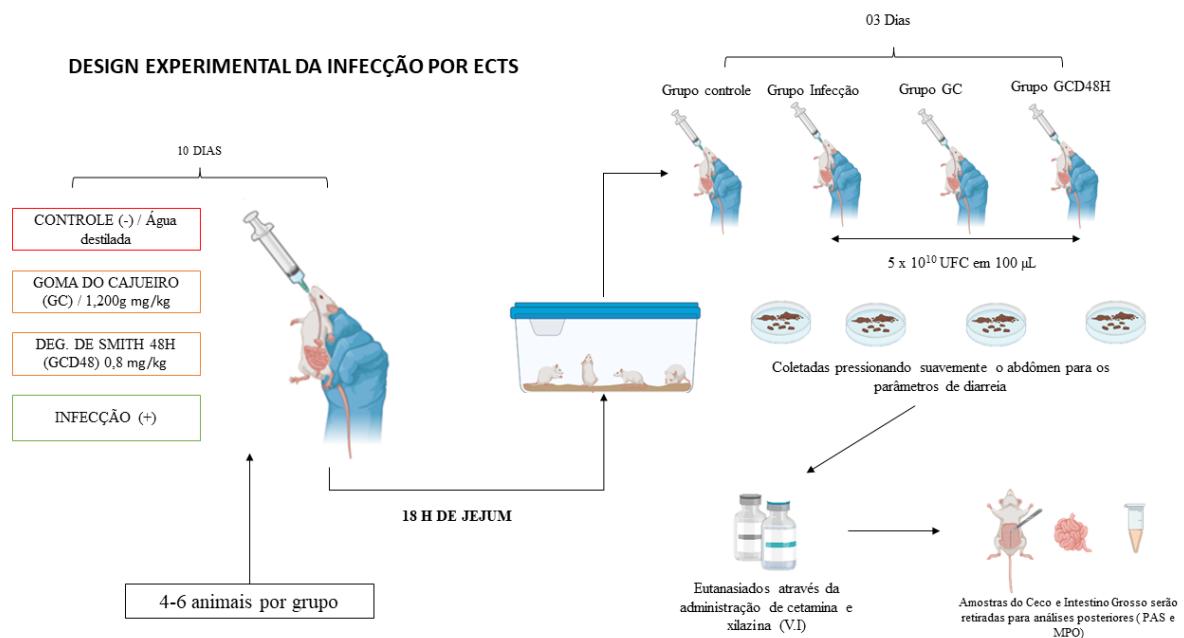
4.5.1 Design Experimental

Animais BALB/c (fêmeas e/ou machos) com seis semanas de idade foram utilizados. Os camundongos receberam ração e água *ad libitum* e alojados a uma determinada temperatura (25 ° C) com um ciclo de luz escura de 12 horas em 12 horas. Os camundongos foram divididos em 4 grupos (4-6 animais): GRUPO 1 (Água destilada – controle negativo), GRUPO 2 (GCD48H⁺ *E. coli* 5 x 10¹⁰ UFC), GRUPO 3 (GC⁺ *E. coli* 5 x 10¹⁰ UFC) e GRUPO 4 (ECTS 5 x 10¹⁰ UFC). Nesse sentido, realizou-se um pré-tratamento durante 10 dias com os compostos e posteriormente os grupos experimentais foram submetidos a infecção. O projeto foi aprovado comitê de ética

4.5.2 Indução da Diarreia

O experimento seguiu o modelo Mohawk e colaboradores (2010) e Zou e colaboradores (2020) com modificações. Os camundongos receberam ração e água *ad libitum*, exceto antes da infecção por *E. coli* O157:H7. A ração foi retirada das gaiolas dos animais no dia anterior (18 horas de jejum). A água foi retirada das gaiolas 2 horas antes da infecção dos camundongos. Após a infecção, o acesso a alimentos e água foram restaurados. Desse modo foi inoculado por gavagem 5 x 10¹⁰ unidades formadoras de colônia (UFC) em 100 µL durante 3 dias consecutivos. As fezes de todos os camundongos serão coletadas pressionando suavemente o abdômen para os parâmetros de diarreia. No dia seguinte os animais serão eutanasiados com ketamina (300 mg/kg) e xilazina (30 mg/kg) e será retirado os órgãos para fazer as análises posteriores (**Figura 7**).

Figura 7 - Design Experimental da Infecção por ECTS



Fonte: Adaptado de Mohawk *et al.*, 2010; Zou *et al.*, 2020

4.5.3 Critérios Utilizados na Análise do Score de Diarreia

Os parâmetros para avaliar a gravidade da infecção pela ECTS e seus scores foram apresentados no presente estudo seguindo a metodologia de Yim e colaboradores (2021) seguindo os seguintes parâmetros como modificações como mortalidade, temperatura, consistência das fezes conforme seus scores (**0** = Fezes normais ou falta de diarréia; **1** = Fezes semi-sólidas ou sólidas; **2** = Fezes pastosas/Fezes em quantidade pequena/moderada; **3** = Fezes aquosas/Fezes em grande quantidade), presença de sangue ou muco (**0** = Sem sangue/muco; **0,5** = Vestígio de sangue/muco nas fezes; **1** = Presença de sangue/muco nas fezes), consistência das fezes (Método de **1 grau** = Normais sem marca de água no papel filtro; **2 graus** = Úmidas com fezes de formato normal com marca d'água no papel filtro/mancha no pêla induzida por diarréia; **3 graus** = Aquosas com fezes disformes com marca de água, além da borda das fezes no papel toalha ou diarréia aquosa com escassos componentes formados).

4.5.4 Processamento Histológico

As análises histoquímicas para observar a presença de mucinas neutras das amostras foram realizadas após a fixação por 24 horas em formol a 10% e conservação em álcool a 70%.

As amostras de ceco e outras porções do intestino grosso (IG) dos camundongos foram desidratadas, diafanizadas e embebidas em parafina. Posteriormente, submetidas a processamentos para a realização de cortes histológicos, de modo a obter as lâminas a serem coradas com Ácido Periódico de Schiff (PAS) para detectar mucinas neutras (Trevizan *et al.*, 2016).

4.5.3.1 Coloração de Ácido Periódico de Schiff (PAS).

Lâminas histológicas contendo amostra de tecido intestinal, já desparafinizadas, foram hidratadas em soluções consecutivas de álcool (90 e 70%) e em água destilada. Em seguida, os cortes foram mergulhados em solução de ácido periódico 0,5% por aproximadamente 10 min. Após isso, os cortes foram lavados em água corrente, com subsequente imersão no reativo de Schiff por 40min, ao abrigo da luz. Para remover o excesso de Schiff e evitar falsos positivos, os cortes foram lavados no banho sulfuroso por 4min. Para contra-coloração, utilizou-se a Hematoxilina de Meyer. Por fim, os cortes foram desidratados e as lâminas foram montadas com Permount. Para tanto, foram analisadas imagens da mucosa intestinal separadas por grupo distintos, capturadas com câmera de alta resolução (Olympus® SC30, 3.0 MP), com objetiva de 400X, conectada ao microscópio de luz (Olympus® BX43F, Minato-Ku, Japão). Pixels positivos de glicoproteínas neutras semelhantes a mucina foram coradas com PAS e quantificados usando o software ImageJ® versão 1.53 k. Os resultados foram expressos em porcentagem da área de mucinas coradas (Schneider; Rasband; Eliceiri, 2012; Lopes *et al.*, 2023).

4.6 AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM GC E SEU DERIVADO NOS NÍVEIS DE SOD NA INFECÇÃO OCASIONADA PELA ECTS

A atividade de SOD foi avaliada seguindo o proposto por Sun, Oberley e Li (1988). A partir das amostras foi realizado um homogenato a 10%, que em seguida foi centrifugado a 3000 rpm, por 15 minutos com temperatura de 4 °C. Logo após, foi retirado 100 µL do sobrenadante e colocado em outro tubo, e adicionado 1110 µL de tampão fosfato, descontando o que já foi adicionado desse tampão no homogenato, 40 µL de Triton X-100 (1% v/v), 75 µL de L-metionina (20mM), 100 µL de EDTA (50 µM) e 75 µL de cloreto de hidroxilamina (10 mM). Após adicionados todos os reagentes, os tubos foram colocados em banho-maria na temperatura de 37 °C durante 5 minutos. Depois de um período necessário, com pouca luz, foi adicionado

80 µL de riboflavina (50 µM) e todos os tubos foram colocados em uma caixa adequada com luz branca no tempo de 10 minutos. Logo após, ainda sob pouca luz, 100 µL da solução preparada foi adicionada a poços da placa para Ensaio de Imunoabsorbância ligado à enzima (ELISA), com adição de 100 µL do reagente de Griess. Após 10 minutos, em temperatura ambiente, foi realizada a leitura em leitor de ELISA (550 nm). No que diz respeito a dosagem de proteínas totais foi usado um kit do LABTEST. Com o valor da dosagem de proteínas totais foi calculado o valor de Unidade de SOD (U SOD)/mg de proteínas totais.

4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

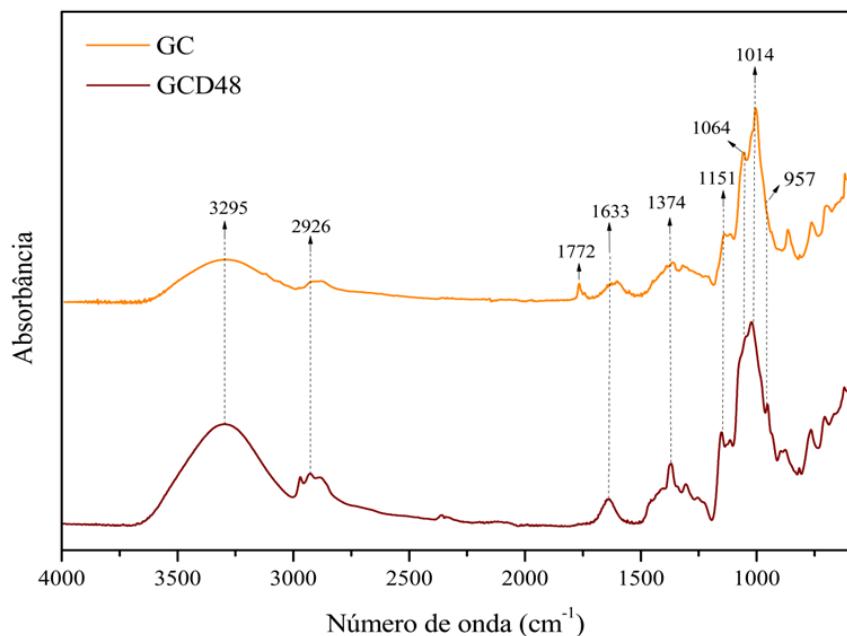
Os resultados foram expressos com média ± EPM de 4 a 6 animais por grupo e foram realizados através do software GraphPad Prism 8 (La Jolla, CA), utilizando-se a análise de variância (ANOVA), em seguida pelo pós-teste Tukey. As diferenças consideradas significativas quando $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas a partir do programa GraphPad Prism, software versão 7.

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS OLGs OBTIDOS DA GC

Na **figura 8** são apontados espectros do FTI-R do OLG e GC, em que é possível observar mudanças na funcionalização química desse composto. Os resultados apresentados em nosso estudo demonstram picos característicos de polissacarídeos que foram expressos na faixa 4000-600 cm⁻¹. Dessa forma, as características espetrais atribuíveis a GC podem ser claramente observadas, no qual o pico 3305 cm⁻¹ relacionado com a vibração de estiramento do OH, 2924 cm⁻¹ (faixa é atribuída ao estiramento CH do CH₂), 1774 cm⁻¹ (correspondendo ao estiramento CO = do grupo éster carbônica), 1627 cm⁻¹ (alongamento assimétrico das vibrações COO – e OH das moléculas de água), 1368 cm⁻¹ (correspondendo ao estiramento simétrico COO –), 1151 cm⁻¹ (características das vibrações de estiramento C-O-C das ligações glicosídicas e OH dos álcoois), 1016 cm⁻¹ (C-O-C grupos éter glicosídicos) e 936 cm⁻¹ (vibrações de estiramento CO) (Oliveira *et al.*, 2023; Biswas *et al.*, 2020; Leite *et al.*, 2017). O OLG apresentou picos de bandas típicas de polissacarídeo em torno 3296, 2046, 1633, 1374, 1014, 957 cm⁻¹, demonstrando que ainda há resíduos da GC.

Figura 8 - Espectro de infravermelho da Goma do Cajueiro (GC) e seu derivado (GCD48H) pelo processo de Degradação Smith



Os experimentos de titulação potenciométrica foram propostos neste trabalho para determinar os valores em porcentagem do teor de ácido urônico presente no OLG derivado da GC. Dessa forma, a análise possibilitou a verificação do ponto de equivalência e a obtenção do teor de acidez da amostra, sendo observado um resultado satisfatório de ácidos no grupo OLG obtidos pela degradação. O valor está presente na **Tabela 1**.

Tabela 1 - Quantificação em porcentagem (%) de ácido urônicos presente no GCD48H derivados da GC

Amostra	Ácido presente na goma em porcentagem (%)
GCD48H	5,7%
GC	6,0%

Fonte: Autoria própria, 2024

5.2 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS E SCORE DA DIARREIA

Nas análises realizadas durante os 3 dias de infecções foram observados parâmetros ocasionados pela infecção pela ECTS e se houve diferença com os animais tratados com os compostos GC e GCD48H. Dessa forma, foi possível avaliar se houve mortalidade, mancha no pelo, temperatura retal, sangue, muco e consistência das fezes. Com isso os grupos experimentais conseguiram sobreviver até a finalização da análise (mortalidade), sem acúmulo de fezes e sem nenhuma mancha no pelo ocasionada pela infecção. Houve diferença significativa entre os grupos INF, GC e GCD48, onde foi possível observar sangue nas fezes do grupo INF (**Figura 10B**), muco no grupo GC (**Figura 10C**) e INF. Além disso, a consistência das fezes apresentou normalidade em todos os grupos. O grupo pré-tratado com GCD48H (**Figura 10D**) não apresentou nem sangue e muco, assim com o grupo controle (**Figura 10A**) durante as análises apresentadas na **Tabela 2**

Tabela 2 - Gravidade da infecção pela ECTS e seus scores

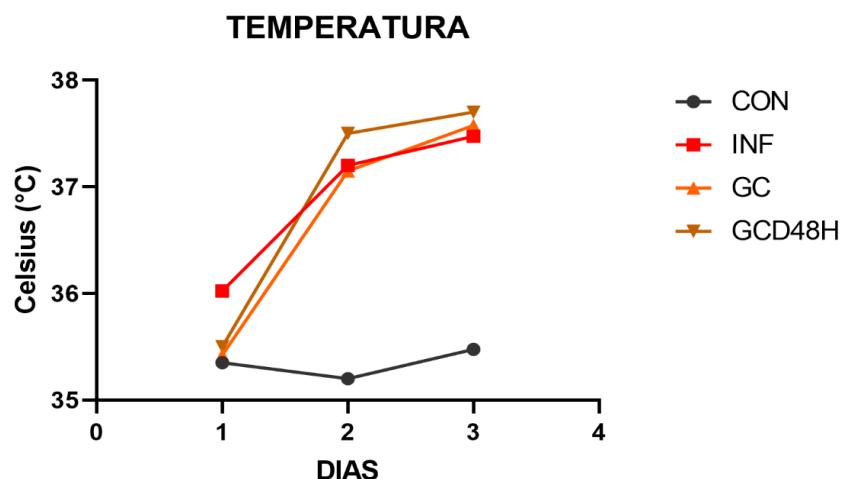
PARÂMETROS	GRUPOS	DIAS		
		01	02	03
Mortalidade	CON	0	0	0
	INF	0	0	0
	GC	0	0	0

	GCD48H	0	0	0
Score de fezes	CON	0	0	0
	INF	0	0	0
	GC	0	0	0
	GCD48H	0	0	0
Score de sangue	CON	0	0	0
	INF	0	1	1
	GC	0	0	0
	GCD48H	0	0	0
Score de muco	CON	0	0	0
	INF	0	1	1
	GC	0	1	1
	GCD48H	0	0	0
Formato e parâmetro consistência das fezes	CON	1	1	1
	INF	1	1	1
	GC	1	1	1
	GCD48H	1	1	1
Manchas no pelo induzidas por diarréia	CON	0	0	0
	INF	0	0	0
	GC	0	0	0
	GCD48H	0	0	0

Fonte: Autoria própria, 2024

Outro parâmetro avaliado foi a temperatura retal dos camundongos, onde foi possível observar o aumento dessa temperatura retal durante o período de contaminação demonstrado em grau Celsius (°C) no gráfico mostrado na **Figura 9**.

Figura 9 - Gravidade da infecção pela ECTS e seus scores (Temperatura)



Fonte: Autoria própria, 2024

Figura 10 – Efeitos da gravidade da infecção pela ECTS em parâmetros da diarréia.



Legenda: (A-D) Amostras de fezes, evidenciando a quantidade de muco ou sangue. (A) Grupo CON (controle negativo); (B) grupo INF; (C) grupo que recebeu pré-tratamento com GC, seguido da infecção ECTS; (D) grupo pré-tratados com GCD48H e submetidos a posterior a infecção por ECTS.

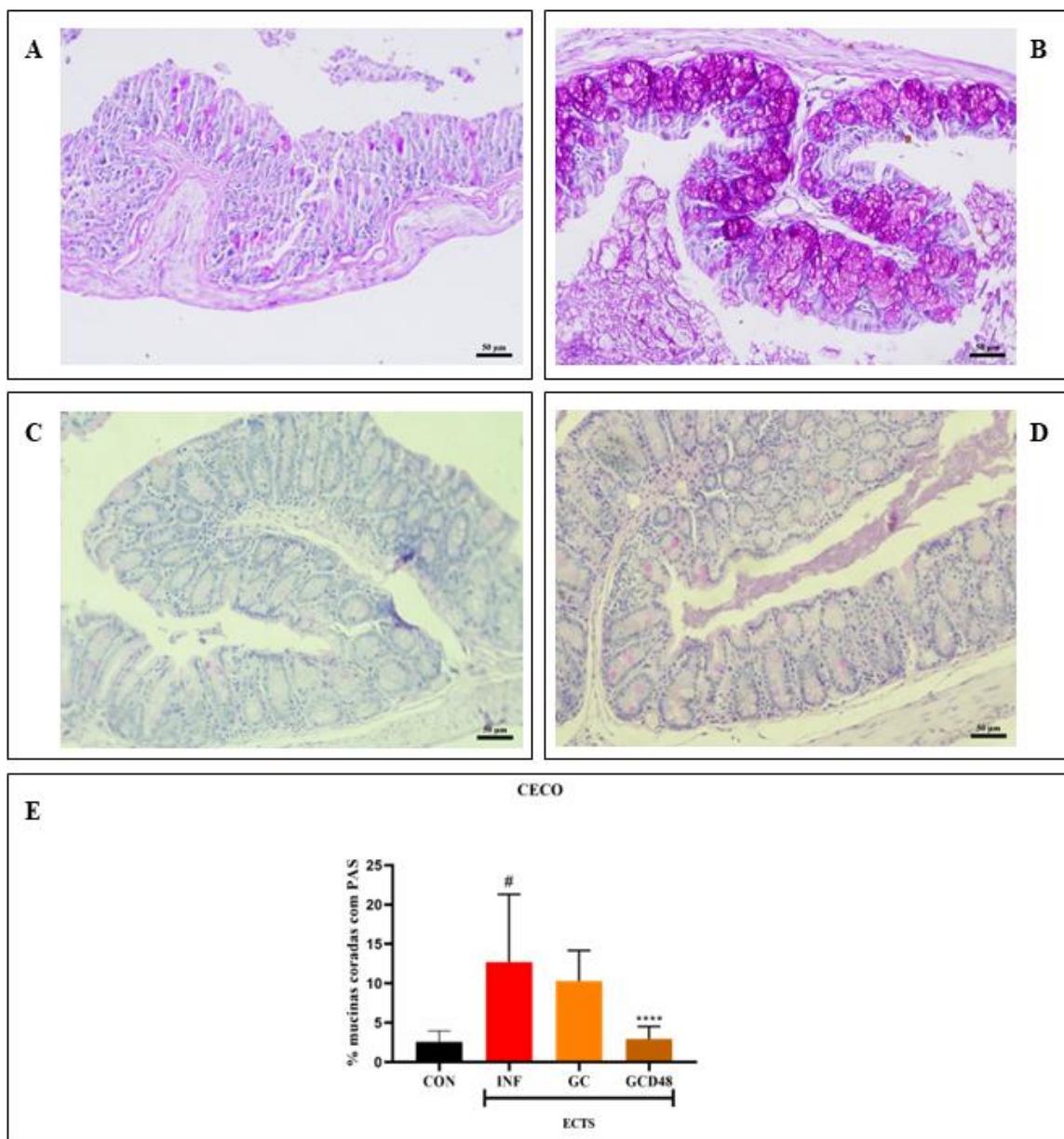
Fonte: Autoria própria, 2024

5.3 EFEITOS DA GC E SEU DERIVADO NOS NÍVEIS DE MUCINA NO TECIDO INTESTINAL

Os tecidos do ceco e outras porções do IG corados com PAS demonstrou em nossos resultados que os animais do grupo INF teve um aumento significativo do conteúdo de muco do ceco em comparação com grupo CON e da mesma forma ocorreu no IG como mostrado nas **Figura 11 e 12**. Os animais do grupo INF apresentaram aumento significativo (13% mucinas coradas com PAS, $p < 0,05$) do conteúdo de muco em comparação com grupo CON (2,6% mucinas coradas com PAS). Já o pré-tratado com GCD48 (2,9% mucinas coradas com PAS) demonstrou redução significativa de muco em comparação com INF, demonstrando manutenção na quantidade de muco no ceco. No entanto, não houve uma redução na perda de muco no grupo pré-tratado com a GC em relação ao grupo INF.

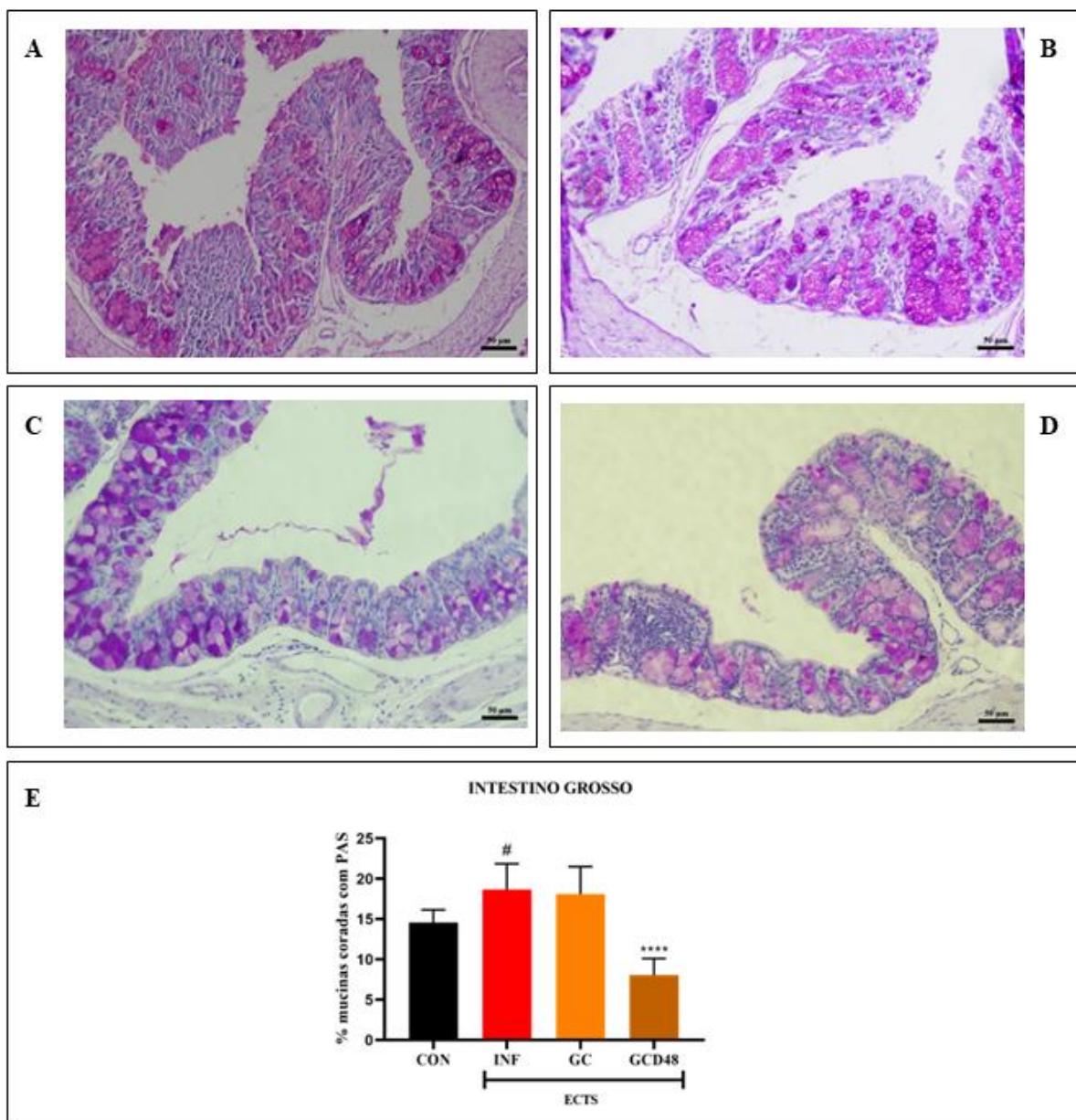
Além disso, o grupo INF apresentou um aumento de muco (18,7% mucinas coradas com PAS) no IG em comparação com grupo CON (14,6% mucinas coradas com PAS) e o que realizou o pré-tratamento com GCD48 (8% mucinas coradas com PAS) apresentou uma redução significativa de muco no IG em comparação com grupo lesado (INF). Semelhante ao encontrado no ceco, o grupo GC (18,1% mucinas coradas com PAS) não apresentou diferença significativa em comparação com grupo INF, demonstrando que tanto no ceco quanto na porção proximal do IG, mesmo recebendo pré-tratamento com a GC, as células caliciformes ainda estavam produzindo muco no processo infeccioso.

Figura 11 Análise microscópica dos efeitos da GC e seu derivado no ceco na infecção pela ECTS.



Legenda: (A-D) Fotomicrografias no aumento de 20 \times das amostras de ceco coradas com PAS, evidenciando a quantidade de mucina presente na mucosa. (A) Grupo CON (controle negativo); (B) grupo INF; (C) grupo que recebeu pré-tratamento com GC, seguido da infecção ECTS; (D) grupo pré-tratados com GCD48H e submetidos a posterior por infecção por ECTS. (E) Análise gráfica dos níveis de mucina avaliados pela coloração com PAS. Os resultados estão expressos pela média \pm erro padrão da média de pelo menos 6 animais por grupo. (****) p<0.05 quando comparado ao grupo GCD48H; (#) p<0.05, quando comparado ao grupo INF. Os dados foram analisados por ANOVA unidirecional seguido de teste de Tukey.

Figura 12 Análise microscópica dos efeitos da GC e seu derivado em outras porções do IG na infecção pela ECTS.

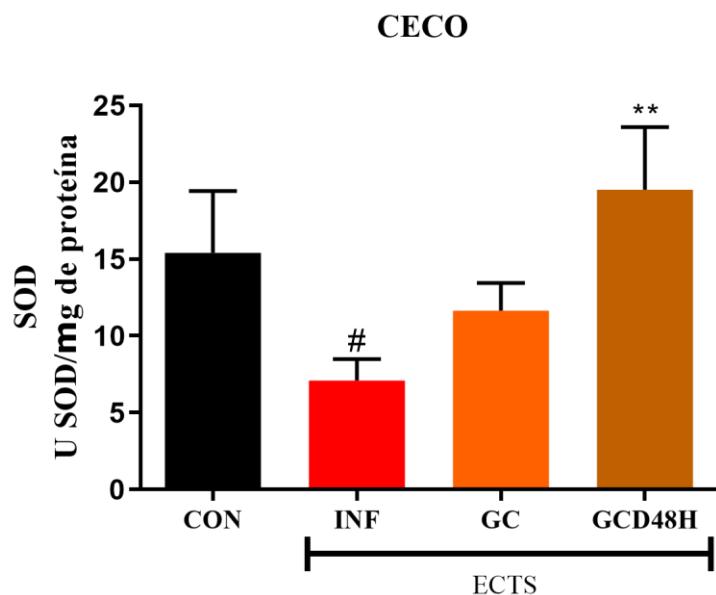


Legenda: (A-D) Fotomicrografias no aumento de 20 \times das amostras de ceco coradas com PAS, evidenciando a quantidade de mucina presente na mucosa. (A) Grupo CON (controle negativo); (B) grupo INF; (C) grupo que recebeu pré-tratamento com GC, seguido da infecção ECTS; (D) grupo pré-tratados com GCD48H e submetidos a posterior por infecção por ECTS. (E) Análise gráfica dos níveis de mucina avaliados pela coloração com PAS. Os resultados estão expressos pela média \pm erro padrão da média de pelo menos 6 animais por grupo. (****) $p < 0.0001$ quando comparado ao grupo GCD48H; (#) $p < 0.05$, quando comparado ao grupo INF. Os dados foram analisados por ANOVA unidirecional seguido de teste de Tukey.

5.4 AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM GC E SEUS DERIVADOS NOS NÍVEIS DE SOD NA INFECÇÃO OCASIONADA PELA ECTS

A análise da atividade da SOD foi quantificada, avaliada e expressa em U SOD/mg de proteína, no valor de $p < 0,05$. A utilização dos tratamentos com a GC ($11,64 \pm 0,91$ U SOD / mg de proteína) e GCD48 ($19,52 \pm 2,34$ U SOD / mg de proteína) resultou em um aumento significativo ($p < 0,05$) dos níveis de SOD no ceco, quando comparado com o grupo INF ($7,09 \pm 0,80$ U SOD / mg de proteína). Por outro lado, o grupo infectado apresentou uma redução significativa desses níveis quando comparado ao grupo controle ($15,41 \pm 2,01$ U SOD/m de proteína), como ilustrado na **Figura 13**.

Figura 13 Efeito da GC e seu derivado nos níveis Superóxido Dismutase (SOD) no ceco em camundongos infectados com ETCS

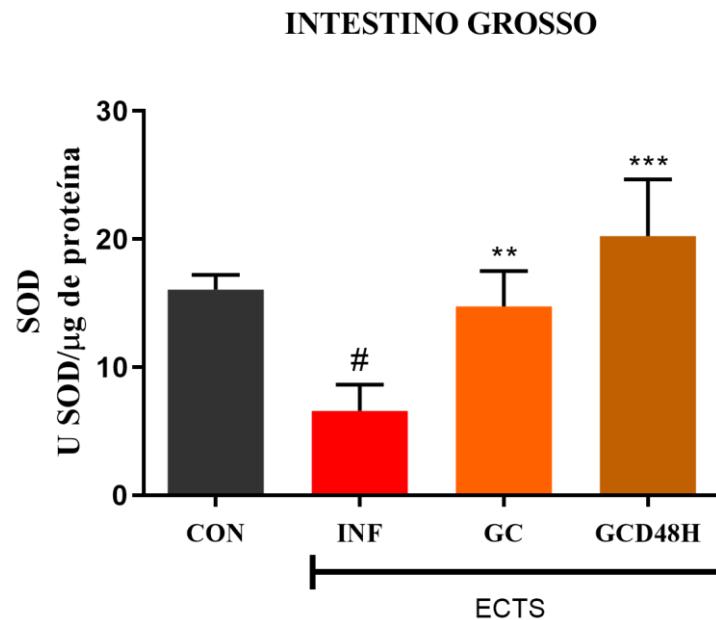


Legenda: Os resultados estão expressos pela média \pm erro padrão da média de pelo menos 6 animais por grupo. (**) $p < 0,05$ quando comparado ao grupo INF; (#) $p < 0,05$ quando comparado ao grupo CON (controle negativo). Os resultados foram analisados por One-way ANOVA seguido pelo teste de Tukey.

Da mesma forma, foi possível observar que mesma reação no IG, onde os tratamentos com os compostos GC ($14,74 \pm 1,38$ U SOD / mg de proteína) e GCD48H ($20,24 \pm 2,55$ U SOD / mg de proteína) obteve um aumento significativo ($p < 0,05$) dos níveis de SOD no IG quando comparado com o grupo INF ($6,58 \pm 1,03$ U SOD / mg de proteína). Contudo, o grupo infectado

apresentou uma diminuição significativa desses níveis quando comparado ao grupo CON ($16,05 \pm 0,66$ U SOD / mg de proteína), como demonstrado na **Figura 14**.

Figura 14 Efeito da GC e seu derivado nos níveis Superóxido Dismutase (SOD) em outras porções do IG em camundongos infectados com ETCS



Legenda: Os resultados estão expressos pela média \pm erro padrão da média de pelo menos 6 animais por grupo. (**) $p<0,05$ quando comparado ao grupo INF; (#) $p<0,05$ quando comparado ao grupo CON (controle negativo). Os resultados foram analisados por One-way ANOVA seguido pelo teste de Tukey.

6 DISCUSSÃO

Durante o processo de degradação de Smith, é possível observar vários monossacarídeos devido ao procedimento de fragmentação em moléculas completas, dessa forma, pode haver a despolimerização de um polissacarídeo para outro ou originar em OLG. No presente estudo foi realizado a análise por meio do espectro FTI-R, um procedimento rápido e não destrutivo, em que pode reconhecer diferentes grupos funcionais que ocorrem nas estruturas das moléculas (Yang *et al.*, 2020). Em nosso estudo foi possível observar bandas característicos da GC presentes no GCD48, confirmando com os estudos de Oliveira e colaboradores (2021) que demonstram a presença de pequenas mudanças entre os espectros da GC e seus derivados, porém permanecendo similaridade entre eles.

O ácido glucurônico está presente na construção de polissacarídeos e OLGs, dessa forma, a análise de titulação é um dos métodos importantes na caracterização físico-química de compostos extraídos de produtos naturais (Meka *et al.*, 2017), estando relacionada com a quantidade (%) de ácidos presente nos OLGs e adjunto com outras análises que determinará a viscosidade intrínseca das moléculas, assim, descrevendo a diminuição da densidade de carga, favorecendo uma expansão das cadeias, além de confirmar que esses polissacarídeos possuem caráter polieletrolítico (Da Silva *et al.*, 2022, Rodrigues; Paula; Costa, 2013; Paula; Feitosa, 2018). Dessa forma, estudos de De Paula e Rodrigues (1995) demonstram que OLGs produzidos a partir do método de degradação apresentaram dados semelhantes com GC, que a percentagem de ácidos na GC varia entre 4-6 % (De Paula; Rodrigues, 1995, Paula; Paula; Feitosa, 2018).

A partir da obtenção do OLG derivado da degradação da GC, realizou-se protocolo de infecção por ECTS em camundongos para avaliar os parâmetros da infecção após tratamento prévio com OLGs e GC. Para isso, a gravidade da infecção foi avaliada por meio das características presentes nos camundongos usando uma variedade de pontuações que incluem mortalidade, sangue, muco, consistência nas fezes, mancha no pelo e temperatura retal, no qual foi adaptado do estudo de Yin, Kim e Lee (2021), possibilitando que seja observado qualquer alteração durante esse período. Durante os 3 dias de infecções, alguns desses parâmetros não apresentaram mudanças em nenhum dos grupos como mortalidade, mancha no pelo dos animais e na consistência das fezes. Corroborando com os nossos resultados, os estudos de Hauser e colaboradores (2020) e Russo e colaboradores (2014) demonstraram que camundongos intoxicados após administração oral da TxS não morreram durante os dez primeiros dias, porém

apresentaram morbidade característico desse patógeno como presença de sangue nas fezes e aumento de temperatura.

Com relação a outros parâmetros como a presença de sangue e muco nas fezes, em nossos resultados, foi possível observar a presença de sangue nas fezes no grupo infecção, sendo característico de lesão ocasionado pela bactéria, nossos resultados corroboram com os estudos de Mallick e colaboradores (2012) e Mohawk e colaboradores (2011) que também foi observado sangue nas fezes de camundongos infectados com ECTS. Ademais, foi possível observar a presença de muco no grupo INF, que se acredita ser resultado do aumento da produção intestinal de muco como mecanismo de defesa (Li *et al.*, 2015). A temperatura retal foi outro parâmetro analisado demonstrando se houve ou não um processo infeccioso, sendo um dos mecanismos de defesa do organismo de combater a infecção, tendo em vista um estudo de Liu e colaboradores (2023), no qual foi possível observar aumento na temperatura retal de suínos infectados com ECTS.

A coloração de PAS foi um procedimento histológico utilizado para observar a expressão de mucinas neutras na mucosa intestinal, onde essas mucinas podem estar presentes em algumas células caliciformes, criptas e vilosidades (Brown *et al.*, 1988). Dessa forma, em nosso estudo, o grupo lesado (INF) apresentou um aumento significativo de mucinas na porção proximal do IG e no ceco em comparação com nosso grupo controle (CON). Dessa forma, o IG é composto por duas camadas de muco produzidas pelas células caliciformes, no qual é composto principalmente de mucinas, que atuam como mecanismo de defesa, lubrificação e transporte entre o conteúdo luminal e revestimento epitelial (Li *et al.*, 2015; Johansson *et al.*, 2011; Deplancke; Gaskins, 2001).

Consistente com nosso achado que mostra que ECTS entra principalmente pela via oral para chegar ao intestino, depois passa pela camada de muco e atinge as células epiteliais. Contudo, o aumento de mucina nos tecidos infectados pode estar relacionado com mecanismo de defesa que as células caliciformes intestinais produzem contra a invasão de patógenos como é mostrado nos estudos de Kawasaki e Ambrosini (2024) e Xue e colaboradores (2014) quando ocorre um processo infeccioso por ECTS há um aumento de secreção dessas células como uma resposta à presença microbiana, onde há o reforço das barreiras físicas contra patógenos e macromoléculas durante a infecção intestinal.

Dessa forma, houve uma redução significativa de mucinas em nosso grupo de pré-tratamento com composto GCD48H em relação ao grupo INF, essa diminuição está relacionada ao efeito que os OLGs tem de proteger a mucosa intestinal contra patógenos como mostra os estudos de Altamini e colaboradores (2016) e Douëllou e colaboradores (2017), em que

componentes alimentares como os OLGs possuem uma capacidade antiadesiva, tornando-se inibidores eficientes da adesão de patógenos a mucosa intestinal, confirmado assim nossos achados, acredita-se que uma fração presente na cadeia da GC pode estar relacionada com essa redução, pois estudos demostram que a GC possui efeitos farmacológicos como atividade antidiarreica (Araújo *et al.*, 2015), proteção esofágica (Nicolau *et al.*, 2019) e efeitos gastroprotetores (Carvalho *et al.*, 2015) por mucoadesão, assim, surgindo como uma estratégia eficaz para prevenir infecções como a causada pela ECTS. O pré-tratamento com GC demonstrou uma aumento na quantidade de muco na parede da mucosa intestinal em ambos tecidos, podendo ser fator benéfico, pois há estudo na literatura como Carvalho e colaboradores (2015) que mostram que esse polímero aumentou secreção de muco no tecido gástrico tornando um fator importante tanto na prevenção de danos ao epitélio gástrico quanto na facilitação de seu reparo.

A SOD é uma enzima que faz parte do sistema de defesa antioxidante que ajuda catalisar a desmutação do superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio e dentro das células tem poder de atuar como primeira linha de defesa contra espécies reativas de oxigênio (Wang; Ki, 2023; Dobashi *et al.*, 2011). Dessa forma, foi possível observar em nossos resultados que houve aumento de SOD nos grupos que receberam pré-tratamento com os compostos GC e GCD48H e também uma redução significativa dessa enzima no grupo INF. Estudos de Villegas e colaboradores (2013) e Gomes e colaboradores (2013) que demonstram que houve redução em enzimas antioxidantes com SOD em infecções ocasionadas pela ECTS, onde esse a TXS presente nesse patógeno cause um desequilíbrio oxidativo ocasionado pelo EROS por ser baixos em células, podendo acarretar no redução nos níveis de SOD em condições favoráveis, porque os níveis de EROS liberado produzido pelos neutrófilos pode estar relacionada a fontes de estresse oxidativo durante a intoxicação por TxS, assim apresentando um papel importante na patogênese de infecções ocasionadas por patótipos de *E. coli* que produzem esta toxina corroborando com nossos achados.

Com relação ao aumento de SOD nos compostos usados no pré-tratamento houve uma melhora nas funções antioxidantes ocasionando a eliminação de excesso de radicais livres ocasionado pela infecção. Estudos na literatura mostra que o uso de gomas naturais apresenta um efeito benéfico diante das lesões sejam elas físicas, químicas ou biológicas, como a goma do angico vermelho (Chaves *et al.* 2024) que apresentou uma melhora na lesão por etanol e a goma arábica que demonstrou benefícios na atividade antiulcerogênica (Taha; El-Sherbiny; Osman, 2020) e a goma xantana onde foi possível observar que o gel omitido desse composto

aumentou significativamente os parâmetros antioxidantes com SOD, assim corroborando com nossos achados (Elsayed *et al.*, 2023).

7 CONCLUSÃO

De acordo com os dados obtidos em nosso estudo, foi possível observar que o modelo de infecção por ECTS foi reproduzido de forma satisfatória, demonstrando danos na mucosa intestinal como descrito na literatura como surgimento de muco e macroscopicamente presença de sangue nas fezes dos animais e assim, os nossos compostos GC e GCD48H que forma utilizados como pré-tratamento, onde o grupo GCD48H apresentou uma redução significativa de muco nos tecidos analisados confirmado pela coloração de PAS e também macroscopicamente. Em relação análises de SOD houve um aumento significativo do parâmetro do sistema antioxidante no ceco e na poção próxima do IG após a infecção por esse patógeno. Nessa perspectiva, torna-se importante realizar mais investigação em outras abordagens experimentais que possam elucidar nossos achados.

REFERÊNCIAS

- AFUM, T *et al.* Diarrhea-causing Bacteria and their antibiotic resistance patterns among Diarrhea Patients from Ghana. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 894319, 2022.
- AHMAD, S *et al.* A review on latest innovations in natural gums based hydrogels: Preparations & applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 136, p. 870-890, 2019.
- AKHONDI, H.; SIMONSEN, K. A. Bacterial diarrhea. **StatPearls**, StatPearls Publishing 2023.
- AKRIMAJIRACHOOTE, N *et al.* Inhibition of CFTR-mediated intestinal chloride secretion by a fungus-derived arthropsolide A: Mechanism of action and anti-diarrheal efficacy. **European Journal of Pharmacology**, v. 885, p. 173393, 2020.
- ALTAMIMI, M.; ABDELHAY, O.; RASTALL, R. A. Effect of oligosaccharides on the adhesion of gut bacteria to human HT-29 cells. **Anaerobe**, v. 39, p. 136-142, 2016.
- ARAÚJO, T. S. L *et al.* Biopolymer extracted from anadenanthera colubrina (Red angico gum) exerts therapeutic potential in mice: antidiarrheal activity and safety. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 1, p. 17, 2020.
- ARAÚJO, T. S. L. *et al.* Antidiarrheal activity of cashew GUM, a complex heteropolysaccharide extracted from exudate of Anacardium occidentale L. in rodents. **Journal of ethnopharmacology**, v. 174, p. 299-307, 2015.
- BADWAIK, H. R *et al.* Moringa gum and its modified form as a potential green polymer used in biomedical field. **Carbohydrate polymers**, v. 249, p. 116893, 2020.
- BANAŚ, K; HARASYM, J. Natural gums as oleogelators. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 23, p. 12977, 2021.
- BAUTISTA-TRUJILLO, G. U *et al.* Shiga toxin-producing Escherichia coli O157 in piglets and food from backyard systems. In: **Veterinary Research Forum**. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran, 2022. p. 169.
- BHANDARI, J.; ROUT, P.; SEDHAI, Y. Hemolytic Uremic Syndrome. In: **StatPearls Publishing**, 2023.
- BHANDARI, R.; BURAKOFF, R. A pharmacological approach to secretory diarrhea. **The Gastroenterologist**, v. 3, n. 1, p. 67-74, 1995.
- BIERNBAUM, E. N.; KUDVA, I. T. AB5 enterotoxin-mediated pathogenesis: perspectives gleaned from shiga toxins. **Toxins**, v. 14, n. 1, p. 62, 2022.
- BISWAS, Atanu *et al.* Hydrophobic modification of cashew gum with alkenyl succinic anhydride. **Polymers**, v. 12, n. 3, p. 514, 2020.
- BROWN, P. J *et al.* Histochemistry of mucins of pig intestinal secretory epithelial cells before and after weaning. **Journal of Comparative Pathology**, v. 98, n. 3, p. 313-323, 1988.

- BURCHARD, G. D *et al.* Reisediarrhoe. **DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift**, v. 138, n. 33, p. 1673-1686, 2013.
- BURGERS, K.; LINDBERG, B.; BEVIS, Z. J. Chronic diarrhea in adults: evaluation and differential diagnosis. **American family physician**, v. 101, n. 8, p. 472-480, 2020.
- BURGERS, K.; LINDBERG, B.; BEVIS, Z.J. Chronic diarrhea in adults: evaluation and differential diagnosis. **American family physician**, v. 101, n. 8, p. 472-480, 2020.
- CAMPOS, D. A *et al.* Study of antimicrobial activity and atomic force microscopy imaging of the action mechanism of cashew tree gum. **Carbohydrate polymers**, 90(1), 270-274. 2012
- CARVALHO, A. L. N *et al.* Acute, subacute toxicity and mutagenic effects of anacardic acids from cashew (*Anacardium occidentale* Linn.) in mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 135, n. 3, p. 730-736, 2011.
- CARVALHO, N. S *et al.* Gastroprotective properties of cashew gum, a complex heteropolysaccharide of *Anacardium occidentale*, in naproxen-induced gastrointestinal damage in rats. **Drug Development Research**, v. 76, n. 3, p. 143-151, 2015.
- CHAVDA, V. P *et al.* Combatting infectious diarrhea: innovations in treatment and vaccination strategies. **Expert Review of Vaccines**, v. 23, n. 1, p. 246-265, 2024.
- CHAVES, L. S *et al.* Gastroprotective activity and physicochemical analysis of carboxymethylated gum from *Anadenanthera colubrina*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 260, p. 129397, 2024
- CHEN, Y. *et al.* Synthesis of bioactive oligosaccharides and their potential health benefits. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1-13, 2023.
- CHEONG, K *et al.* Oligosaccharides as potential regulators of gut microbiota and intestinal health in post-COVID-19 management. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 6, p. 860, 2023.
- CHEONG, K; LI, J; ZHONG, S. Preparation and structure characterization of high-value *Laminaria digitata* oligosaccharides. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, p. 945804, 2022.
- DA COSTA, D. S. *et al.* Antidiarrheal activity of farnesol in rodents: pharmacological actions and molecular docking. **European Journal of Pharmacology**, v. 874, p. 172986, 2020.
- DA SILVA, J. H. S. Hidrogéis a base da goma do cajueiro e poli (ácido acrílico) como potenciais fornecedores de água na agricultura. **Brazilian Journal of Science**, v. 1, n. 4, p. 1-17, 2022.
- DAVANI-DAVARI, D *et al.* Prebiotics: definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. **Foods**, v. 8, n. 3, p. 92, 2019.7
- DAWOD, E.; CRAWFORD, C.V. Common diarrheal illnesses in the Elderly. **Clinics in Geriatric Medicine**, v. 37, n. 1, p. 103-117, 2021.
- DE JESUS OLIVEIRA, A. C *et al.* Microwave-initiated rapid synthesis of phthalated cashew gum for drug delivery systems. **Carbohydrate Polymers**, v. 254, p. 117226, 2021.

- DE MIRANDA, J. A. L. *et al.* Protective effect of cashew gum (*Anacardium occidentale* L.) on 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis. **Pharmaceuticals**, v. 12, n. 2, p. 51, 2019.
- DEPLANCKE, B; GASKINS, H. R. Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. **The American journal of clinical nutrition**, v. 73, n. 6, p. 1131S-1141S, 2001.
- DOBASHI, Y *et al.* Effects of intestinal microflora on superoxide dismutase activity in the mouse cecum. **Experimental Animals**, v. 60, n. 2, p. 133-139, 2011.
- DOUËLLOU, T; MONTEL,M ; SERGENTET, D. T. Invited review: Anti-adhesive properties of bovine oligosaccharides and bovine milk fat globule membrane-associated glycoconjugates against bacterial food enteropathogens. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 3348-3359, 2017.
- ELSAYED, A. E. *et al.* Formulation, characterization and impact of an ionically cross linked hydrogel of HPMC and Xanthan gum on growth traits of soybean (*Glycine max* L.) under irrigation levels. **Egyptian Journal of Chemistry**, v. 66, n. 13, p. 1163-1180, 2023.
- FATIMA, R.; AZIZ, M. Enterohemorrhagic Escherichia Coli (EHEC). **StatPearls. Treasure Island (FL)**, 2019.
- GAO, P *et al.* The beneficial potential of protein hydrolysates as prebiotic for probiotics and its biological activity: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1-13, 2023.
- GETANEH, D. K *et al.* Prevalence of Escherichia coli O157: H7 and associated factors in under-five children in Eastern Ethiopia. **Plos one**, v. 16, n. 1, p. e0246024, 2021.
- GÓMEZ, S. A *et al.* The oxidative stress induced in vivo by Shiga toxin-2 contributes to the pathogenicity of haemolytic uraemic syndrome. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 173, n. 3, p. 463-472, 2013.
- HAUSER, J. R *et al.*, The virulence of Escherichia coli O157: H7 isolates in mice depends on Shiga toxin type 2a (Stx2a)-induction and high levels of Stx2a in stool. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, p. 62, 2020.
- HWANG, S *et al.* Role of recent therapeutic applications and the infection strategies of Shiga toxin-producing Escherichia coli. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 11, p. 614963, 2021.
- JAMILA, N *et al.* Characterization of natural gums via elemental and chemometric analyses, synthesis of silver nanoparticles, and biological and catalytic applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 147, p. 853-866, 2020.
- JOHANSON, M. E *et al.* Composition and functional role of the mucus layers in the intestine. **Cellular and molecular life sciences**, v. 68, p. 3635-3641, 2011.
- JOSEPH, A *et al.* Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: A narrative review. **Toxins**, v. 12, n. 2, p. 67, 2020.

KAWASAKI, M; AMBROSINI, Y. M. Differential Colonization and Mucus Ultrastructure Visualization in Bovine Ileal and Rectal Organoid-Derived Monolayers Exposed to Enterohemorrhagic Escherichia coli. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 9, p. 4914, 2024.

KEELY, S. J.; BARRETT, K. E. Intestinal secretory mechanisms and diarrhea. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 322, n. 4, p. G405-G420, 2022.

KIM, J.; LEE, M.; KIM, J. Recent updates on outbreaks of Shiga toxin-producing Escherichia coli and its potential reservoirs. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, p. 273, 2020.

LEE, K; JEONG, Y; LEE, M. Escherichia coli Shiga toxins and gut microbiota interactions. **Toxins**, v. 13, n. 6, p. 416, 2021.

LEITE, A. J et al. The potential of cashew gum functionalization as building blocks for layer-by-layer films. **Carbohydrate polymers**, v. 174, p. 849-857, 2017.

LEMAIGNEN, A et al. Syndrome hémolytique et urémique à Escherichia coli: quels enseignements tirer après l'épidémie européenne de 2011?. **Néphrologie & thérapeutique**, v. 9, n. 3, p. 129-136, 2013.

LI, H et al. The outer mucus layer hosts a distinct intestinal microbial niche. **Nature communications**, v. 6, n. 1, p. 8292, 2015.

LI, S et al. Advances on monosaccharides and oligosaccharides: structural modifications and bioactivities. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 17, p. 2551-2566, 2021.

LI, Y et al. Gut microbiota and diarrhea: an updated review. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 11, p. 625210, 2021.

LOPES, A. L. F et al. Protective effect of alpha-ketoglutarate against water-immersion restraint stress-induced gastric mucosal damage in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 960, p. 176118, 2023.

LIU, Guoping et al. C500 variants conveying complete mucosal immunity against fatal infections of pigs with *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis C78-1 or F18⁺ Shiga toxin-producing Escherichia coli. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1210358, 2023.

MALLICK, E M et al. A novel murine infection model for Shiga toxin-producing Escherichia coli. **The Journal of clinical investigation**, v. 122, n. 11, p. 4012-4024, 2012.

MARTINEZ-MEDINA, M. Special Issue: Pathogenic Escherichia coli: Infections and Therapies. **Antibiotics**. 2021; 10: 112 [em linha]. 2021.

MATUSSEK, A et al. Genome-wide association study of hemolytic uremic syndrome causing Shiga toxin-producing Escherichia coli from Sweden, 1994–2018. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 42, n. 6, p. 771-779, 2023.

MEKA, V. S et al. A comprehensive review on polyelectrolyte complexes. **Drug discovery today**, v. 22, n. 11, p. 1697-1706, 2017.

- MOHAWK, Krystle L.; O' BRIEN, Alison D. Mouse models of Escherichia coli O157: H7 infection and shiga toxin injection. **BioMed Research International**, v. 2011, n. 1, p. 258185, 2011.
- MORAES, R. R. *et al.* Development of cashew gum-based bionanocomposite as a platform for electrochemical trials. **International journal of biological macromolecules**, v. 153, p. 118-127, 2020
- MUELLER, M.; TAINTER, C. R. Escherichia coli infection. In: **StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing**, 2023.
- MÜLLHAUPT, B. Diarrhoe. **Praxis**, v. 91, n. 42, p. 1749-1756, 2002.
- NEGI, H *et al.* Medicinal plants and natural products: More effective and safer pharmacological treatment for the management of obesity. **Current Drug Metabolism**, v. 22, n. 12, p. 918-930, 2021.
- NEHRA, A *et al.* Natural gum-based functional bioactive films and coatings: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 1, p. 485, 2022.
- NGUYEN, D.H *et al.* RNA therapeutics for diarrhea. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, v. 204, p. 295-309, 2024.
- NICOLAU, L. D. N *et al.* Cashew gum, a biopolymer, topically protects oesophageal mucosa in non erosive reflux disease: a promising translational study. **Carbohydrate polymers**, v. 226, p. 115205, 2019.
- OLIVEIRA, A.C *et al.* pH-responsive phthalate cashew gum nanoparticles for improving drugs delivery and anti-Trypanosoma cruzi efficacy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 230, p. 123272, 2023.
- PATEL, D. K. Ethnopharmacological Uses, Pharmacological Activities, and Therapeutic Applications of Tecto chrysins in Medicine: An Important Class of Dietary Flavonoid. **Cardiovascular & Haematological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Cardiovascular & Hematological Disorders)**, v. 23, n. 1, p. 11-20, 2023.
- PAULA, R; PAULA, H; FEITOSA, ANDRADE, J. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira. 2018.
- POKHAREL, P; DHAKAL, S; DOZOIS, X. M. The diversity of Escherichia coli pathotypes and vaccination strategies against this versatile bacterial pathogen. **Microorganisms**, v. 11, n. 2, p. 344, 2023.
- QU, C. *et al.* Sesquiterpene lactones improve secretory diarrhea symptoms by inhibiting intestinal Ca^{2+} -activated Cl^- -channel activities directly and indirectly. **European Journal of Pharmacology**, v. 955, p. 175917, 2023.
- RAMAMURTHY, T.; KUMARI, S.; GHOSH, A. Diarrheal disease and gut microbiome. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, v. 192, n. 1, p. 149-177, 2022.

- RAWASHDEH, M *et al.* National Consensus for the Management of Acute Gastroenteritis in Jordanian Children: Consensus Recommendations Endorsed by the Jordanian Paediatric Society. **International Journal of Pediatrics**, v. 2022, n. 1, p. 4456232, 2022.
- RIBEIRO, A. C. B *et al.* Cashew apple pectin as a carrier matrix for mangiferin: Physicochemical characterization, in vitro release and biological evaluation in human neutrophils. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 171, p. 275-287, 2021.
- RODRIGUES, J. F.; PAULA, R. C. M.; COSTA, S. M. O. Métodos de isolamento de go mas naturais: comparação através da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 3, n. 1, p. 31-36, 2013.
- RODWELL, E.V *et al.* Shiga toxin-producing *Escherichia coli* clonal complex 32, including serotype O145: H28, in the UK and Ireland. **Journal of Medical Microbiology**, v. 71, n. 8, p. 001579, 2022.
- RUSSO, L. M. *et al.*, Oral intoxication of mice with Shiga toxin type 2a (Stx2a) and protection by anti-Stx2a monoclonal antibody 11E10. **Infection and immunity**, v. 82, n. 3, p. 1213-1221, 2014.
- SARI, M. H. M; FERREIRA, L. M.; CRUZ, L. The use of natural gums to produce nano-based hydrogels and films for topical application. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 626, p. 122166, 2022.
- SCHIRATO, G.V. *et al.*. The polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. in the inflammatory phase of the cutaneous wound healing. **Ciencia Rural**, 36, p.149-154, 2006
- SENDEROVICH, H.; VIERHOUT, M. Is there a role for bismuth in diarrhea management?. **Rambam Maimo nides medical journal**, v. 12, n. 1, 2021.
- SILVA, D. C. G *et al.* *Anacardium occidentale* L.(cajueiro) in the healing of skin wounds: an experimental study in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 37, n. 10, p. e371006, 2022.
- SILVA, T. M *et al.* Cashew gum as future multipurpose biomacromolecules. **Carbohydrate Polymers**, p. 122749, 2024.
- SIVEP. Monitoramento de doenças diarreicas agudas. **Tableau Public**, 2024. Disponível em: <https://public.tableau.com/app/profile/dda.brasil/viz/MonitoramentodasDDA/1MonitoramentoBrasil2024>. Acesso em: 01 Out 2024.
- SOUZA, J. M. S *et al.* Cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) extract from a by-product of juice processing: assessment of its toxicity, antiproliferative and antimicrobial activities. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, p. 764-776, 2021.
- STAMM, G *et al.* Differential diagnosis and investigation of chronic diarrhea. **Revue medicale suisse**, v. 18, n. 793, p. 1578-1583, 2022.
- TANG, L *et al.* Calcium/calcimimetic via calcium-sensing receptor ameliorates cholera toxin-induced secretory diarrhea in mice. **World Journal of Gastroenterology**, v. 30, n. 3, p. 268, 2024.

- TORQUATO, D.S *et al.* Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 20(5), pp.505-507. 2004
- TRAVERT, B *et al.* Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: Specificities of adult patients and implications for critical care management. **Toxins**, v. 13, n. 5, p. 306, 2021.
- TREVISAN, M. T. S *et al.* Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. **Food and Chemical toxicology**, v. 44, n. 2, p. 188-197, 2006.
- TREVIZAN, A. R *et al.* Kinetics of acute infection with *Toxoplasma gondii* and histopathological changes in the duodenum of rats. **Experimental parasitology**, v. 165, p. 22-29, 2016.
- UGBOKO, H.U *et al.* Childhood diarrhoeal diseases in developing countries. **Heliyon**, v. 6, n. 4, 2020.
- VERKHNYATSKAYA, S. A. *et al.* Digestion, fermentation, and pathogen anti-adhesive properties of the hMO-mimic di-fucosyl- β -cyclodextrin. **Food & Function**, v. 12, n. 11, p. 5018-5026, 2021.
- VILLEGRAS, N *et al.* Relevance of biofilms in the pathogenesis of shiga-toxin-producing *Escherichia coli* infection. **The scientific world journal**, v. 2013, n. 1, p. 607258, 2013.
- WANG, H; KI, J. Molecular characterization and expression analysis of copper-zinc superoxide dismutases from the freshwater alga *Closterium ehrenbergii* under metal stress. **Environmental toxicology**, v. 35, n. 1, p. 5-14, 2020.
- WANG, T *et al.* Influence of glycosyl composition on the immunological activity of pectin and pectin-derived oligosaccharide. **International journal of biological macromolecules**, v. 222, p. 671-679, 2022.
- WHO - World Health Organization. **Diarrhoea, Diarrhoeal diseases, diarrhea, acute watery diarrhoea**. 2018. Disponível em: <https://www.who.int/westernpacific/health-topics/diarrhoea>. Acesso em: 6 fev. 2024.
- WHO - World Health Organization. **Shiga Toxin-producing Escherichia Coli (STEC) and Food**. [s.l.] : World Health Organization, 2019. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241514279>. Acesso em: 6 fev. 2024.
- WHO- World Health Organization.. **Diarrhoeal disease**. 2024. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>. Acesso em: 22 Nov. 2024
- WHO- World Health Organization.. **Diarrhoeal disease**. 2017. Disponível em: [https://www.who.int/news-roo](https://www.who.int/news-room)
- WU, Y *et al.* Structural features, interaction with the gut microbiota and anti-tumor activity of oligosaccharides. **RSC advances**, v. 10, n. 28, p. 16339-16348, 2020.
- XI, M *et al.* Effects of stachyose on intestinal microbiota and immunity in mice infected with enterotoxigenic *Escherichia coli*. **Journal of Functional Foods**, v. 64, p. 103689, 2020.

- XIA, S *et al.* Phosphorylation of polysaccharides: A review on the synthesis and bioactivities. **International journal of biological macromolecules**, v. 184, p. 946-954, 2021.
- XUE, Y *et al.* Host inflammatory response inhibits Escherichia coli O157: H7 adhesion to gut epithelium through augmentation of mucin expression. **Infection and immunity**, v. 82, n. 5, p. 1921-1930, 2014.
- YANG, K *et al.* In vitro prebiotic activities of oligosaccharides from the by-products in Ganoderma lucidum spore polysaccharide extraction. **RSC advances**, v. 10, n. 25, p. 14794-14802, 2020.
- YANG, S *et al.* Current pathogenic Escherichia coli foodborne outbreak cases and therapy development. **Archives of microbiology**, v. 199, p. 811-825, 2017.
- YANG, X *et al.* High prevalence and persistence of Escherichia coli strains producing Shiga toxin subtype 2k in goat herds. **Microbiology spectrum**, v. 10, n. 4, p. e01571-22, 2022.
- YANG, Z *et al.* The applications of polysaccharides in dentistry. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, p. 970041, 2022.
- YIM, S. K; KIM, S. W; LEE, Soo Teik. Efficient stool collection methods for evaluating the diarrhea score in mouse diarrhea models. **in vivo**, v. 35, n. 4, p. 2115-2125, 2021.
- ZHENG, L *et al.* Preparation methods, biological activities, and potential applications of marine algae oligosaccharides: A review. **Food Science and Human Wellness**, v. 12, n. 2, p. 359-370, 2023.
- ZOU, Y *et al.* Protection of galacto-oligosaccharide against E. coli O157 colonization through enhancing gut barrier function and modulating gut microbiota. **Foods**, v. 9, n. 11, p. 1710, 2020.

ANEXOS

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal do Delta do Parnaíba - UFDPar
 Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA
 Av. São Sebastião, 2819, Parnaíba, Piauí, Brasil; CEP: 64202-020.
 E-mail: ceua.ufdpar@gmail.com

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “**Avaliação do Potencial Terapêutico de Oligossacarídeos Presentes na Goma do Cajueiro (*Anacardium occidentale*) no Tratamento de Desordens Gástricas, Doenças Diarreicas Infecciosas e Inflamatórias**”, registrada sob protocolo Nº 001/22, de a responsabilidade do Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros do Curso de Biologia da Universidade Federal do Delta do Parnaíba/UFDPar, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de Pesquisa Científica e/ou Ensino, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Delta do Parnaíba (CEUA/UFDPar), em Reunião na presente data **11/02/2022**.

Finalidade	() Ensino	(X) Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	março/ 2022 a março/ 2026	
Espécie/Linhagem/raça:	Camundongos (<i>Mus musculus</i>), linhagem Balb/c.	
Nº de Animais:	307	
Peso/ Idade:	25g-30g, 4 semanas	
Sexo:	Fêmeas-152 / Machos-155	
Origem:	Biotério da Universidade Federal do Delta do Parnaíba - UFDPar	

Parnaíba, 11 de fevereiro de 2022.

Jefferson Soares de Oliveira

Prof. Dr. Jefferson Soares de Oliveira
 Coordenador da CEUA/UFDPar

ANEXO B - COMPROVANTE DE ACESSO - SISGEN DA GOMA DO CAJUEIRO



**Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº A34FE16

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro:	A34FE16
Usuário:	Universidade Federal do Piauí
CPF/CNPJ:	06.517.387/0001-34
Objeto do Acesso:	Patrimônio Genético
Finalidade do Acesso:	Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico

Espécie

Anacardium occidentale

Título da Atividade:	Ação da goma do cajueiro, um heteropolissacarídeo complexo extraído do exsudato de Anacardium occidentale L., no trato gastrintestinal: efeitos sobre as disfunções motoras e secretoras, ação protetora de mucosa, antinflamatória e antioxidante
----------------------	---

Equipe

Jand Venes Rolim Medeiros	Universidade Federal do Piauí
Durcilene Alves da Silva	Universidade Federal do Piauí
Marcellus Henrique Loiola Ponte de Souza	Universidade Federal do Ceará
Nathalia Santos Carvalho	Universidade Federal do Piauí
Thiago de Souza Lopes Araújo	Universidade Federal do Piauí
Lucas Antonio Duarte Nicolau	Universidade Federal do Ceará
José Roberto de Souza de Almeida Leite	Universidade de Brasília

ANEXO C - REGISTRO NA PROPOPI



UNIVERSIDADE FEDERAL DO DELTA DO PARNAÍBA - UFDFPar
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
Núcleo de Pesquisa em Pós-graduação
Av. São Sebastião, 2819, Bairro Nossa Senhora de Fátima
CEP: 64202-020, Parnaíba, PI – Brasil

Registro na PROPOPI

UFDFPar - 0062-2022	Agosto/2022 - Janeiro/2026	Jand Venes Rolin Medeiros	Avaliação do Potencial Terapêutico de Oligossacarídeos Presentes na Goma do Cajueiro (<i>Anacardium occidentale</i>) no Tratamento de Desordens Gástricas, Doenças Diarreicas Infecciosas e Inflamatórias.
------------------------	----------------------------------	---------------------------------	--

Projeto cadastrado na PROPOPI disponível para consulta no site:

<https://docs.google.com/document/d/1Be8dOFsXUCpoYvumISOpU6MLZ5AltTQ-/edit>

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Jand Venes Rolim Medeiros".

Assinatura

SIAPE: 1680593