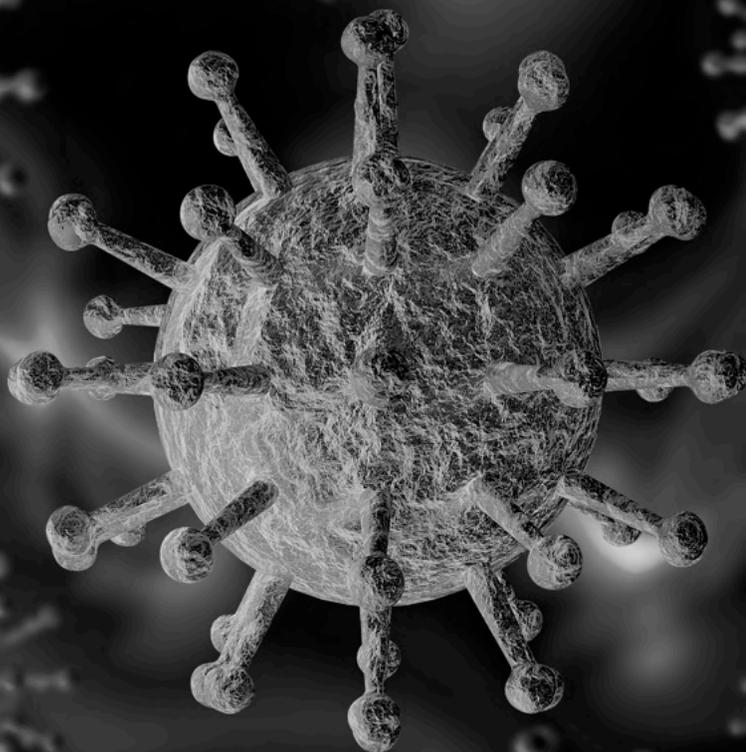


Alana Maria Cerqueira de Oliveira  
(Organizadora)

# Microbiologia:

Geração de conhecimento e caráter multidisciplinar

 **Atena**  
Editora  
Ano 2022



Alana Maria Cerqueira de Oliveira  
(Organizadora)

# Microbiologia:

Geração de conhecimento e caráter multidisciplinar

  
Ano 2022

**Editora chefe**

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Editora executiva**

Natalia Oliveira

**Assistente editorial**

Flávia Roberta Barão

**Bibliotecária**

Janaina Ramos

**Projeto gráfico**

Bruno Oliveira

Camila Alves de Cremona

Luiza Alves Batista

Natália Sandrini de Azevedo

**Imagens da capa**

iStock

**Edição de arte**

Luiza Alves Batista

2022 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2022 Os autores

Copyright da edição © 2022 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição-Não-Comercial-Não-Derivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

**Conselho Editorial****Ciências Biológicas e da Saúde**

Profª Drª Aline Silva da Fonte Santa Rosa de Oliveira – Hospital Federal de Bonsucesso

Profª Drª Ana Beatriz Duarte Vieira – Universidade de Brasília

Profª Drª Ana Paula Peron – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília

Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás



Prof. Dr. Cirênio de Almeida Barbosa – Universidade Federal de Ouro Preto  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira  
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco  
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará  
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí  
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. José Aderval Aragão – Universidade Federal de Sergipe  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Maurilio Antonio Varavallo – Universidade Federal do Tocantins  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá  
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Sheyla Mara Silva de Oliveira – Universidade do Estado do Pará  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Suely Lopes de Azevedo – Universidade Federal Fluminense  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade do Vale do Sapucaí  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Welma Emídio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco



## Microbiologia: geração de conhecimento e caráter multidisciplinar

**Diagramação:** Camila Alves de Cremo  
**Correção:** Yaiddy Paola Martinez  
**Indexação:** Amanda Kelly da Costa Veiga  
**Revisão:** Os autores  
**Organizadora:** Alana Maria Cerqueira de Oliveira

### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

M626 Microbiologia: geração de conhecimento e caráter multidisciplinar / Organizadora Alana Maria Cerqueira de Oliveira. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-258-0644-0

DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.440222909>

1. Microbiologia. 2. Genética. 3. Biologia molecular. 4. Biotecnologia. 5. Bacteriologia. 6. Virologia. 7. Patologia. I. Oliveira, Alana Maria Cerqueira de (Organizadora). II. Título.

CDD 579

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

**Atena Editora**

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

contato@atenaeditora.com.br



**Atena**  
Editora  
Ano 2022

## DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.



## DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.



## APRESENTAÇÃO

A Obra “Microbiologia: Geração de conhecimento e caráter multidisciplinar” publicada no formato e-book, traz ao leitor cinco artigos de relevada importância na área de Microbiologia. O Foco principal desta obra é atualização sobre o tipo de pesquisa que se vem fazendo atualmente na área, discussão e divulgação científica de pesquisas nacionais, englobando as diferentes áreas afins.

Atualmente é evidente o avanço científico nesta área, o que aumenta a importância e a necessidade de atualização e consolidação de conceitos, técnicas, procedimentos e temas.

As pesquisas científicas produzidas em diversas regiões do país, estão divulgadas na forma de artigos originais e de revisões abrangendo os diferentes campos dentro da área de Microbiologia e suas conexões. Portanto, englobando a: Microbiologia, Genética, Biologia molecular, Biotecnologia, Bacteriologia, Virologia e Patologia. Produzindo assim uma obra multidisciplinar e transversal que vai desde a pesquisa básica a aplicação prática.

A obra foi elaborada primordialmente com foco nos profissionais, pesquisadores e estudantes da área de Microbiologia e suas interfaces ou áreas afins. Entretanto, é uma leitura interessante para todos aqueles que de alguma forma se interessam pela área.

Cada capítulo foi elaborado com o propósito de transmitir a informação científica de maneira clara e efetiva, em português ou inglês, linguagem acessível, concisa e didática, atraindo a atenção do leitor, independente se seu interesse é acadêmico ou profissional.

Os capítulos desta obra explanam sobre: *Shigella sonnei*, suscetibilidade *in vitro* de *Pythium insidiosum*, triagem sorológico-molecular para o vírus da hepatite C e análise de polpa de goiaba.

O livro “Microbiologia: Geração de conhecimento e caráter multidisciplinar”, traz publicações atuais e a Atena Editora traz uma plataforma que oferece uma estrutura adequada, propicia e confiável para a divulgação científica de diversas áreas de pesquisa.

Uma ótima leitura a todos(as)!

Alana Maria Cerqueira de Oliveira

## SUMÁRIO

### **CAPÍTULO 1..... 1**

PLASMÍDIOS CONJUGATIVOS ISOLADOS DO ENTEROPATÓGENO *Shigella sonnei*  
CODIFICAM SUBSTÂNCIA(S) ANTAGONISTA(S) E RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA

Jaqueline Silvana Moreira  
Jamil Silvano de Oliveira  
Desielle de Matos Clementino  
Paula Prazeres Magalhães  
Luiz de Macêdo Farias

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4402229091>

### **CAPÍTULO 2..... 14**

PURIFICATION OF MULTIFUNCTIONAL SUBSTANCES ACTIVE AGAINST *Shigella sonnei*

Jaqueline S. Moreira  
Jamil S. Oliveira  
Marcelo P. Bemquerer  
Ricardo A. Machado-de-Ávila  
Daniel M. Santos  
Desielle C. Matos  
Bruna T. Maria  
Paula P. Magalhães  
Luiz M. Farias

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4402229092>

### **CAPÍTULO 3..... 30**

SUSCETIBILIDADE IN VITRO DE *Pythium insidiosum* FRENTE AOS ÓLEOS DE  
*Helianthus annuus* L., *Eugenia caryophyllata* E SUAS COMBINAÇÕES

Caroline Quintana Braga  
Júlia de Souza Silveira  
Daniela Isabel Brayer Pereira

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4402229093>

### **CAPÍTULO 4..... 44**

AVALIAÇÃO DO TESTE SUPLEMENTAR GEENIUS HCV SUPPLEMENTAL ASSAY NA  
DISPARIDADE ENTRE RESULTADO DE TRIAGEM SOROLÓGICO-MOLECULAR PARA  
O VÍRUS DA HEPATITE C

Giovanna Ferreira da Silva  
Irley Karoline Seixas Paiva  
Mércia Ferreira Ribeiro  
Marcello do Couto Dias  
Katarine Antônia dos Santos Barile  
Carlos Eduardo de Melo Amaral

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4402229094>

<b>CAPÍTULO 5.....</b>	<b>49</b>
ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO SUCO DA POLPA DE GOIABA DO RESTAURANTE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ	
Yasmin Pereira	
 <a href="https://doi.org/10.22533/at.ed.4402229095">https://doi.org/10.22533/at.ed.4402229095</a>	
<b>SOBRE A ORGANIZADORA.....</b>	<b>55</b>
<b>ÍNDICE REMISSIVO.....</b>	<b>56</b>

## SUSCETIBILIDADE IN VITRO DE *Pythium insidiosum* FRENTE AOS ÓLEOS DE *Helianthus annuus* L., *Eugenia caryophyllata* E SUAS COMBINAÇÕES

Data de aceite: 28/09/2022

### Caroline Quintana Braga

Universidade Federal de Pelotas  
Pelotas- Rio Grande do Sul  
<http://lattes.cnpq.br/3480021230833629>

### Júlia de Souza Silveira

Universidade Federal de Pelotas  
Pelotas- Rio Grande do Sul  
<http://lattes.cnpq.br/1459260532249554>

### Daniela Isabel Brayer Pereira

Universidade Federal de Pelotas  
Pelotas- Rio Grande do Sul  
<http://lattes.cnpq.br/3382450720179401>

**RESUMO:** *Pythium insidiosum* é um oomiceto aquático causador da pitiose, uma enfermidade infecciosa, não contagiosa, e de prognóstico desfavorável. Fármacos antifúngicos convencionais são pouco eficazes sobre esse micro-organismo, pois a maioria possui seu mecanismo de ação atuando sobre o ergosterol da membrana celular, que está ausente neste oomiceto. Apesar do avanço nas pesquisas, o tratamento da pitiose ainda não está completamente estabelecido. Diante desses fatos, a terapia utilizando óleos essenciais de plantas bioativas e suas associações surgem como novas alternativas no combate a esse patógeno. O presente estudo buscou avaliar a suscetibilidade *in vitro* de *P. insidiosum* frente ao óleo de *Helianthus annuus* L. ozonizado e a *Eugenia caryophyllata* individualmente e combinados entre si, frente a 30 e 20 isolados clínicos de *P.*

*insidiosum*, respectivamente. O inóculo utilizado no teste de suscetibilidade foi preparado a partir de cultura micelial de *P. insidiosum*. Para a realização do teste de suscetibilidade empregou-se o método de microdiluição em caldo baseado no protocolo M-38A2 do CLSI e as combinações foram avaliadas pela técnica de *cherkerboard*. O óleo de *H. annuus* L. e *E. caryophyllata* foram obtidos comercialmente e os componentes do óleo essencial foram previamente determinados pelo fabricante. As concentrações testadas variaram entre 56.000 µg/mL a 0,05 µg/mL para ambos os óleos. A leitura levou em consideração o crescimento ou não de hifas, sendo identificada a Concentração Inibitória Mínima (CIM). As concentrações acima da concentração inibitória mínima foram utilizadas para determinação da Concentração Oomicida Mínima (COM). A menor concentração do óleo que não evidenciou crescimento foi considerada a COM. Os resultados para os testes isoladamente demonstram que a CIM<sub>50</sub> e CIM<sub>90</sub> foram de 3500 µg/mL e 28000 µg/mL, respectivamente para *H. annuus* L. e de 875 µg/mL e 7000 µg/mL, respectivamente para *E. caryophyllata*. A combinação de ambos os óleos evidenciou sinergismo em 95% (19/20) dos isolados avaliados e indiferença em 5% (1/20). Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que os óleos de *H. annuus* L. e *E. caryophyllata* podem constituir-se numa terapia adicional ao tratamento da pitiose. No entanto, outras pesquisas são necessárias para verificar sua aplicabilidade em pitiose clínica.

**PALAVRAS – CHAVE:** Oomicetos, pitiose, *Helianthus annuus* L., *Eugenia caryophyllata*.

## INTRODUÇÃO

### *Pythium insidiosum* e pitiose

*Pythium insidiosum* é o agente causador da pitiose em mamíferos (GAASTRA et al., 2010). Trata-se de um oomiceto aquático classificado no Reino Stramenopila, Classe Oomycetes, Ordem Pythiales, Família Pythiaceae, Gênero *Pythium* e Espécie *Pythium insidiosum* (ALEXOUPOLOS, 1996). Trata-se de uma doença de caráter invasivo de rápida progressão e difícil tratamento (HILTON et al., 2016). Possui distribuição mundial, ocorrendo em regiões de clima tropical, subtropical e temperado (MENDOZA et al., 1996). No Brasil, a pitiose acomete principalmente equinos, com maior número de relatos na região Sul do país e Pantanal mato-grosense, e em humanos, com elevado número de infecções na Tailândia (LEAL et al., 2001; MARCOLONGO-PEREIRA, 2012; WEIBLEN et al., 2015; KRAJAEJUM et al., 2018; ROMERO et al., 2019).

Comumente, observam-se que os animais afetados, permanecem por longos períodos em contato com águas paradas em lagos, açudes ou banhados (CHAFFIN et al., 1995). Em seu ciclo biológico, *P. insidiosum* utiliza plantas aquáticas para o seu desenvolvimento, fazendo reprodução assexuada que se caracteriza pela formação de zoósporos infectantes os quais são liberados na água e movimentam-se até encontrar outra planta para completar seu ciclo. Todavia, estes zoósporos também podem ser atraídos por quimiotaxia para tecidos danificados, onde se fixam e emitem tubos germinativos dando início a infecção (MILLER, 1983). Não há predisposição por raça, idade ou sexo, nem há relatos da contaminação entre os animais e o homem. (MENDONZA; AJELLO; MCGINNIS, 1996; SANTURIO et al., 2006). Dentre as espécies domésticas, os equinos são os mais suscetíveis e se infectam ao entrar em contato com áreas alagadas com presença de zoósporos de *P. insidiosum*. Nestes animais, a enfermidade caracteriza-se pelo desenvolvimento de lesões cutâneas ulcerativas, de evolução rápida, formando grandes massas teciduais de bordas irregulares e aparência tumoral. No interior das lesões observa-se abundante tecido conjuntivo fibroso de consistência firme e aspecto arenoso e ramificadas “*kunkers*” que facilmente se desprendem da lesão (CHAFFIN et al., 1995; MENDOZA et al., 1996). Os “*kunkers*” auxiliam no diagnóstico da doença, porém ao se desprenderem da lesão em ambientes favoráveis, refazem o ciclo biológico mantendo a contaminação do ambiente (FONSECA et al., 2014a). Já nas demais espécies, estas estruturas não são observadas e a doença se manifesta na forma de piogranulomas gastrintestinais e cutâneos (MILLER et al., 1983; FOIL et al., 1984; GROOTERS, 2003). Em caninos, as lesões gastrointestinais são as mais comuns (GROOTERS, 2003), enquanto as formas cutâneas/subcutâneas com desenvolvimento de lesões ulcerativas são frequentes nas demais espécies, incluindo bovinos (PÉREZ et al., 2005; GRECCO et al., 2009;), ovinos (TABOSA et al., 2004), ovinos e caprinos (DO CARMO et al., 2020), e felinos (SOARES et al., 2019; DOWST et al., 2019). Relatos em espécies silvestres também são descritas na literatura, incluindo

caso de pitiose em dromedário (WELLEHAN et al., 2004), onça-pintada (CAMUS et al., 2004), tigre de bengala (BUERGELT et al., 2006), caraúna (PESAVENTO et al., 2008), camelo (VIDELA et al., 2012) e avestruz (SOUTO et al., 2019) Em humanos a pitiose é uma enfermidade de prognóstico desfavorável, sendo comum na Tailândia (KRAJAEJUM et al., 2006), manifestando-se nas formas cutânea, subcutânea, ocular, vascular e sistêmica (SALIPANTE et al., 2012; SCHLOEMER et al., 2013; KHUNKHET et al., 2015; LELIEVRE et al., 2015; SERMSATHANASAWADI et al., 2016; NEUFELD et al., 2018; CHITASOMBAT et al., 2018).

## Tratamento

O tratamento de infecções causadas por *P. insidiosum* é complicado e desafiador. Por possuir uma via incompleta de biossíntese de esteróis, *P. insidiosum* necessita incorporar esteróis exógenos à sua membrana célula. Este fato justifica, em parte, a resistência de *P. insidiosum* e os insucessos nos tratamentos que utilizam antifúngicos, os quais têm ação sobre os esteróis de membrana (LERKSUTHIRAT et al., 2017). A busca por tratamentos efetivos contra a pitiose impulsionou o desenvolvimento de diversas pesquisas que visam à formulação de protocolos terapêuticos eficazes para combater a enfermidade. Nesse sentido, destacam-se as pesquisas com fármacos da classe dos antibacterianos (ITAQUI et al., 2016; JESUS et al., 2016; BAGGA et al., 2018; CHATTERJEE; AGRAWAL, 2018; LORETO et al., 2018, 2019), antifúngicos, tais como: caspofungina, micafungina, terbinafina (PEREIRA et al., 2007; ZANETTE et al., 2015; ITAQUI et al., 2016) óleos essenciais e compostos naturais (FONSECA et al., 2015a, ARAUJO; BOSCO; SFORCIN, 2016; VALENTE, 2016a, b;), nanocompostos (VALENTE et al., 2016a); nanopartículas de prata (bio-AgNP) (VALENTE et al., 2018) e compostos metálicos (RIBEIRO et al., 2017).

## Óleos essenciais

As plantas são utilizadas há milhares de anos na terapêutica. Suas partes como raiz, folhas e flores fornecem substâncias bioativas capazes de auxiliar na cura de doenças e na fabricação de medicamentos (ROSA et al., 2012). Essas substâncias se destacam pelas suas propriedades medicinais, que incluem ações antimicrobianas, analgésicas, anestésicas e anti-inflamatórias (BAKKALI, 2008). Os óleos essenciais são compostos aromáticos originários do metabolismo secundário das plantas. Suas propriedades terapêuticas despertaram um crescente interesse nos estudos relacionados à terapia antimicrobiana. Além disso, por se tratar de compostos naturais, os mesmos apresentam um alto potencial medicinal na busca por tratamentos com baixa toxicidade e menos agressivos FONSECA et al. (2015b). Estudos empregando compostos aromáticos e bioativos de plantas surgiram recentemente como uma nova linha de pesquisa na terapêutica da pitiose. Nesse sentido, investigações sobre a suscetibilidade *in vitro* de *P. insidiosum*, frente a óleos essenciais de *Origanum vulgare*, *Origanum majorana*, *Mentha piperita*, *Rosmarinus officinalis* e *Melaleuca alternifolia* demonstraram resultados promissores (FONSECA et al., 2015a ,b VALENTE

et al., 2016a,b). Da mesma forma, pesquisas vêm avaliando a ação antimicrobiana de compostos bioativos e óleos essenciais de plantas (JESUS et al., 2015; FONSECA et al., 2015a,b), bem como de compostos extraídos de raiz (SRIPHANA et al., 2013ab) e de frutos de plantas (SUTHIWONG et al. 2014).

O óleo essencial de cravo (*Eugenia caryophyllata*) é uma especiaria usada há muitos anos na culinária, perfumaria e também apresenta propriedade antibactericida. Quando testada contra bactérias com *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella Thyphimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Clostridium perfringens*.a ação do óleo diminuiu significativamente a taxa de crescimento destes micro-organismos (SCHERER et al., 2009). Esse óleo tem como princípio ativo o eugenol, um composto fenólico (4-*alil*-2-metoxifenol-C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>), que está presente no caule, flores e folhas da planta (GRIFFITHS, 2000). O eugenol possui atividade antibactericida contra *Streptococcus mutans*, *Bacillus cereus* e antifúngica contra *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, entre outras espécies de fungos, além de possuir efeito anti-inflamatório, cicatrizante e analgésico (DELESPAUL et al., 2000).

O óleo vegetal de girassol (*Helianthus annus* L.) por sua vez, tem aplicações em diversas finalidades como na indústria cosmética, farmacêutica, alimentícia, veterinária, dentre outras. Este óleo tem como principais componentes majoritários os ácidos linoleicos e oleicos. Os óleos podem ser utilizados na sua forma pura ou ozonizados. A utilização do ozônio no tratamento de diversas enfermidades é conhecida como ozonoterapia. O ozônio apresenta benefícios quando utilizado como agente terapêutico devido ao fato de ser um potente oxidante, participando ativamente do processo de cicatrização devido às suas propriedades antimicrobianas. Quando associado com óleos apresenta diversas características biológicas importantes como a ação bactericida, inativação de fungos e vírus, proliferação celular e tecidual (BOCCI et al., 1994). Adicionalmente, nosso grupo de pesquisa constatou que o óleo de girassol ozonizado foi capaz de inibir completamente o crescimento de *P. insidiosum* *in vitro* e *ex vivo* (ZAMBRANO et al., 2019).

Considerando-se as dificuldades encontradas na cura da pitiose, a necessidade de alternativas terapêuticas e o potencial antimicrobiano dos óleos extraídos de plantas, elaborou-se o presente estudo que busca avaliar a suscetibilidade *in vitro* de *P. insidiosum* frente a óleo de *Helianthus annus* L. ozonizado (óleo de girassol) e à *Eugenia caryophyllata* (óleo de cravo), individualmente e combinados entre si.

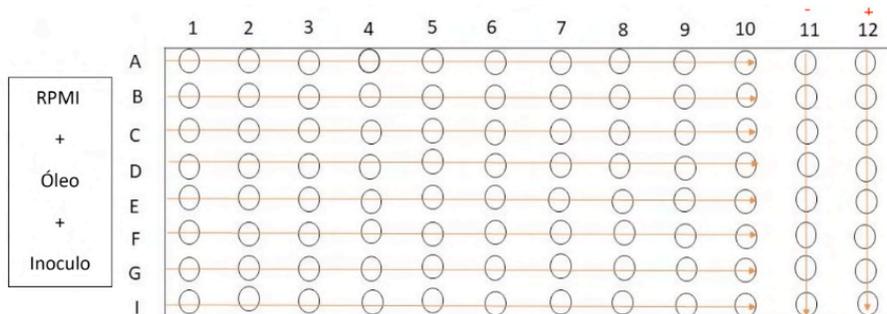
## MATERIAL E MÉTODOS

**Amostras de *P. insidiosum*:** Foram utilizados 30 isolados de *P. insidiosum*, oriundos de 27 equinos e 2 caninos naturalmente infectados e uma cepa padrão (CBS 101555). Todos os isolados pertencem à micoteca do Laboratório de Micologia da Universidade Federal de Pelotas e foram identificados por características macro e micro morfológicas e

confirmados molecularmente conforme descrito por AZEVEDO et al. (2012).

**Preparo dos inóculos:** Os testes de suscetibilidade *in vitro* foram realizados utilizando como inóculo o micélio de *P. insidiosum*, preparado conforme previamente descrito por Fonseca et al. (2014b). O inóculo foi preparado a partir do cultivo de duas placas de Petri contendo agar levedura 0,1%, incubadas durante quatro dias em estufa a 37°C. Sobre estas culturas foi dispensado um volume de 10mL de água destilada estéril e o micélio foi raspado com auxílio de lâmina de bisturi esterilizada. Essa solução foi transferida para um tubo de ensaio e o inóculo obtido foi então ajustado em espectrofotômetro a uma transmitância de 80 a 85%. Logo após foi diluído 1:10 em caldo RPMI 1640 glicosado e tamponado a pH 7,0 com 0,165M MOPS.

**Testes isolados de suscetibilidade *in vitro*:** Os testes de suscetibilidade foram realizados seguindo o protocolo de microdiluição em caldo (M38-A2) do CLSI. O óleo de girassol (*Helianthus annuus* L.) ozonizado (OGO) foi obtido comercialmente pelo fabricante Ozone & Life. A composição do óleo foi fornecida pelo fabricante, sendo seus componentes majoritários: ácido linoleico (65%), ácido oleico (20%), ácido palmítico (5%) e ácido esteárico (5%). O Óleo Essencial de Cravo Folha (OEC) (*Eugenia caryophyllata*) foi obtido comercialmente da empresa Ferquima. Os principais componentes descritos pelo fabricante correspondem ao Eugenol=86% Beta-cariofileno= 10% Acetato Eugenila= 1%. A solução-estoque dos óleos foi preparada adicionando-se 450.000 µg do óleo essencial em 8.000µl de RPMI e 50µl de Tween 80 obtendo a concentração de 56.000µg/mL. A partir das soluções-estoque, foram preparadas dez diluições sucessivas em meio RPMI 1640, as quais variaram de 56.000 a 0,05 µg/mL para ambos os óleos. Aliquotas de 100µL dessas diluições foram dispensadas sequencialmente nas microplacas, preenchendo os poços pertencentes às colunas numeradas de um a dez. A estas colunas foi distribuído um volume de 100µL do inóculo. Para cada teste foram utilizadas colunas controle positivo (inóculo+RPMI) e negativo (óleo+RPMI). As placas foram incubadas a 37°C em estufa orbital de agitação constante a 40 rpm, durante 48 horas. Todos os testes foram realizados em triplicata. A leitura levou em consideração o crescimento ou não de hifas, sendo identificada a concentração inibitória mínima (CIM), ou seja, a menor concentração em que não houve o crescimento de hifas. As concentrações acima da concentração inibitória mínima foram utilizadas para determinação da concentração oomicida mínima (COM). Para isto, 100 µL da diluição foram transferidos para tubos contendo 900 µL de caldo Sabouraud, ficando incubados a 37°C por 24 horas. A menor concentração do óleo que não evidenciou crescimento foi considerada a COM.

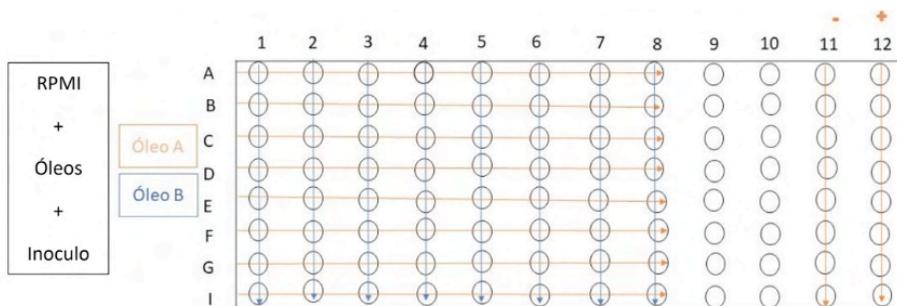


Controle - = RPMI + ÓLEO

Controle + = RPMI + INOCULO

Figura 1: Montagem da placa do teste de suscetibilidade simples.

**Testes associados *in vitro*:** A associação de (OGO) ao (OEC) foi realizada frente a 20 isolados de *P. insidiosum*. Os óleos foram testados nas concentrações de 14.000 a 55 µg/mL e os testes foram realizados empregando a técnica de *cherkerboard* para microdiluição (NCCLS, 2008). Foram utilizados 50µL de RPMI 1640, 50µL do óleo de (OGO) e 50µL do (OEC) em cada diluição, adicionado de 100µL do inóculo. FIGURA 2. A leitura levou em consideração o crescimento ou não de hifas, sendo identificada a concentração inibitória mínima (MIC). A interação foi classificada como sinérgica (Fração de Concentração Inibitória - [FICI] ≤ 0,5), indiferente (0,5 < FICI ≤ 4) ou antagonista (FICI > 4), utilizando a seguinte fórmula:  $FICI = (MIC\ A\ na\ combinação / MIC\ A) + (MIC\ B\ na\ combinação / MIC\ B)$ . (JOHNSON, 2004)



Controle - = RPMI + ÓLEO

Controle + = RPMI + INOCULO

Figura 2: Montagem da placa do teste de suscetibilidade da técnica de *cherkerboard*.

## RESULTADOS

ÓLEOS	CIM <sub>50</sub> <sup>1</sup> µg/ML	CIM <sub>90</sub> <sup>2</sup> µg/mL	Varição da CIM <sup>3</sup> µg/ mL
( <i>Helianthus annus</i> L.) ozonizado	3500	28000	875-28000
<i>Eugenia caryophyllata</i>	875	7000	109,37-28000

<sup>1</sup> Concentração inibitória mínima que inibiu 50% dos isolados; <sup>2</sup>Concentração inibitória mínima que inibiu 90% dos isolados; <sup>3</sup> Variação da concentração inibitória mínima;

Tabela 1: A suscetibilidade *in vitro* de *P. insidiosum* aos óleos individuais de *Helianthus annus* L. ozonizado (OGO) e *Eugenia caryophyllata*(OEC)

Evidenciou-se que os óleos de (OGO) e (OEC) apresentaram atividade antimicrobiana sobre *P. insidiosum*. Observou-se que (OEC) demonstrou melhor atividade antimicrobiana apresentando MIC<sub>50</sub> em 875 µg/mL e MIC<sub>90</sub> em 7000 µg/mL. As concentrações fungicidas mínimas (CFM) dos óleos testados foram iguais as CIM para todos os isolados do oomiceto. A suscetibilidade *in vitro* de *P. insidiosum* frente às combinações dos óleos de (OGO) e (OEC) está demonstrada na Tabela 2. A combinação de ambos os óleos evidenciaram sinergismo em 95% (19/20) dos isolados do oomiceto e indiferença em 5% (1/20). Antagonismo não foi observado nesta combinação. Adicionalmente, evidenciou-se que a CIM nas combinações apresentou menores valores que a CIM isolada. Esses valores para (OGO) diminuíram de 28000 µg/mL para 109,37 µg/mL em alguns isolados. Para (OEC), diminuiu de 7000 µg/mL para 109,37 µg/mL na maioria dos isolados testados.

Isolados	<sup>1</sup> CIM da combinação (µg/mL)		
	OGO/OEC	<sup>2</sup> FICI	<sup>3</sup> In
008	109,37/875	0,2	S <sup>4</sup>
009	437,5/109,37	0,1	S
013	218,75/109,37	0,5	S
014	437,5/109,37	0,4	S
015	875/ 109,37	0,1	S
016	437,5/109,37	0,1	S
019	437,5/109,37	0,3	S
021	218,75/109,37	0,4	S
023	437,5/109,37	0,1	S
026	437,5/109,37	0,2	S
0,27	437,5/109,37	0,05	S

0,29	437,5/109,37	0,3	S
030	218,75/109,37	0,2	S
032	218,75/109,37	0,04	S
035	218,75/109,37	0,2	S
036	218,75/109,37	0,09	S
038	109,37/218,75	0,2	S
040	218,75/109,37	0,3	S
041	437,5/109,37	0,5	S
CBS 101555	437,5/109,37	0,7	I <sup>5</sup>

<sup>1</sup>CIM, concentração inibitória mínima; <sup>2</sup>FICI, índice de concentração inibitória fracional; <sup>3</sup> In interpretação; <sup>4</sup> S, sinergismo; <sup>5</sup> I, indiferença.

Tabela2: Perfil de suscetibilidade *in vitro* de isolados brasileiros de *P. insidiosum* (n=20) frente às combinações dos óleos de *Helianthus annuus* L. (OGO) *Eugenia caryophyllata* (OEC)

## DISCUSSÃO

A busca por terapias e combinações de protocolos terapêuticos vem aumentando nos últimos anos devido às falhas no tratamento da pitiose. Os insucessos no tratamento da doença devem-se, em parte, às peculiaridades do micro-organismo, especialmente a ausência de ergosterol na membrana plasmática, componente alvo de ação da maioria das terapias antifúngicas disponíveis (FOIL, 1996; GROOTERS, 2003). A busca por uma terapêutica eficaz para pitiose é de extrema importância e a fitoterapia tem sido o foco de diversos estudos científicos devido às propriedades antioxidantes e antimicrobianas das plantas medicinais. O emprego de óleos essenciais em terapias antimicrobianas pode ser considerado um método vantajoso, pois possui menor impacto ambiental e baixa toxicidade às células dos mamíferos (Fonseca et al., 2014b).

Diversos óleos essenciais de plantas medicinais foram avaliados sobre isolados de *P. insidiosum* com resultados satisfatórios (FONSECA et al., 2015a, b; VALENTE et al., 2016a, b). No tratamento da pitiose experimental em formulação de uma base de gel não ionizável, a utilização de *M. piperita* e *Origanum vulgare* apresentou resultados bastante promissores, mostrando ser uma alternativa propícia a ser associada ao tratamento da enfermidade (FONSECA et al., 2015b).

Pesquisas empregando óleos essenciais ou compostos bioativos se fazem necessárias, uma vez que é crescente o número de cepas de micro-organismos resistentes aos fármacos antimicrobianos (DORMAN; DEANS et al., 2000). Nos últimos anos, pesquisas *in vitro* e *in vivo* avaliando a suscetibilidade de *P. insidiosum* aos óleos essenciais (Fonseca et al., 2015a,b ; VALENTE et al., 2016a,b ), surgiram como uma nova proposta de terapia para a pitiose. O presente estudo avaliou a suscetibilidade *in vitro* de *P. insidiosum* frente aos óleos de *H. annuus* L. ozonizado (óleo de girassol) e *E. caryophyllata* (óleo de cravo) isolados e em combinação. Os resultados evidenciaram que os óleos avaliados

apresentaram atividade antimicrobiana sobre *P. insidiosum*, corroborando com Fonseca et al. (2015b) que relataram a suscetibilidade *in vitro* de *P. insidiosum* aos óleos essenciais de *M. piperita* e *O. vulgare*. Adicionalmente, estudos de Valente et al. (2016b) demonstraram a atividade anti-*Pythium* de plantas medicinais *Melaleuca alternifolia*, *M. piperita* e *O. vulgare* com CIM próximas às encontradas neste estudo. Estudos de Zambrano et al. (2019) evidenciaram a atividade *in vitro* anti-*P. insidiosum* do (OGO), bem como demonstraram que o crescimento do oomiceto foi inibido após a exposição de material clínico (*kunkers*) ao óleo ozonizado. Os autores concluíram que o (OGO) apresenta importante atividade anti-*P. insidiosum*, o qual pode vir a ser um potente aliado da medicina integrativa a ser empregado na terapia da pitiose em animais.

Adicionalmente, o óleo de *H. annus* L. é muito utilizado como cicatrizante (MARQUES et al. 2004). Contudo, de acordo com as propriedades do óleo de girassol ozonizado e de seus compostos e considerando os resultados obtidos no presente estudo, sugere-se que ele pode contribuir no processo de redução das lesões cutâneas de pitiose. A atividade antimicrobiana de *E. caryophyllata* tem sido amplamente estudada contra diferentes microorganismos, entre eles: bactérias (SABAHAT e PERWEEN, 2008) fungos (PINTO et al., 2009) e parasitos (YANG et al., 2003). O principal componente desse óleo é o eugenol, um composto fenólico volátil presente nas folhas e botões florais da planta que representa 95% do óleo extraído das folhas. O eugenol junto como acetato de eugenila e o  $\beta$ -cariofileno representam 99% do óleo essencial (RAINA, 2001). Segundo Delespaul et al. (2000), este componente possui atividade antimicrobiana e antifúngica. Os óleos essenciais possuem efeitos antimicrobianos que podem ser atribuídos ao seu mecanismo de ação atuando geralmente sobre a membrana citoplasmática. Estes mecanismos envolvem a lise e a perda da integridade da membrana devido às alterações que determinam a saída de íons (hidrogênio, potássio e cálcio), gerando danos aos processos essenciais à sobrevivência da célula (DORMAN; DEANS, 2000; RAO et al., 2010). A combinação entre os óleos de *H. annus* L. ozonizado e *E. caryophyllata* evidenciaram sinergismo em 95% (19/20) dos isolados de *P. insidiosum* testados. Estes resultados foram similares aos relatados por Valente et al. (2016a) que demonstraram 65% de sinergismo na combinação dos óleos essenciais de *M. piperita* e *O. vulgare*. Adicionalmente, Fonseca et al. (2015b) ao avaliar a combinação de *M. piperita* e *O. vulgare* na pitiose experimental associada ou não a outras terapias, sugeriram que o emprego de óleos essenciais em combinação entre si e/ou em associação com outros fármacos antimicrobianos ou imunoterapia pode se constituir numa alternativa viável de tratamento da pitiose cutânea em animais. Em outro estudo, Valente et al. (2016b) ao investigar a suscetibilidade *in vitro* de *P. insidiosum* nas combinações entre os óleos de *M. alternifolia*, *M. piperita* e *O. vulgare* associados ao itraconazol evidenciaram efeitos sinérgicos na associação, sugerindo assim que a combinação entre plantas bioativas e fármacos antifúngicos podem constituir uma alternativa terapêutica a ser aplicada no controle de infecções causadas por *P. insidiosum*. Os resultados do

presente estudo permitem inferir que as CIM dos óleos de *H. annus* L. e *E. caryophyllata* diminuíram quando combinados, podendo ser empregados em associação no combate a *P. insidiosum*. Segundo Zhu et al. (2004) a combinação de dois compostos pode elevar a taxa de morte microbiana e diminuir a duração do tratamento, permitindo o uso de doses mais baixas de cada composto, reduzindo os efeitos tóxicos dos mesmos. Os resultados obtidos somam-se aos estudos prévios que avaliaram a atividade anti-*Pythium* de óleos essenciais de plantas. Sugere-se que o emprego dos óleos de girassol e cravo, isolados ou em combinação, podem ser uma alternativa viável de tratamento da pitiose cutânea em animais. No entanto, outras pesquisas são imprescindíveis para determinar novos protocolos terapêuticos envolvendo o emprego de tais óleos.

## CONCLUSÕES

*P. insidiosum* apresenta suscetibilidade in vitro aos óleos de *H. annus* L. ozonizado e *E. caryophyllata* bem como as suas combinações. Evidencia-se melhor atividade antimicrobiana do óleo essencial de *E. caryophyllata* quando avaliado isoladamente. O acentuado efeito sinérgico das combinações dos óleos de *H. annus* L. ozonizado e *E. caryophyllata* sugerem que esta combinação deve ser considerada como uma terapia aditiva e/ou alternativa para o tratamento da pitiose.

## REFERÊNCIAS

ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. Phylum Oomycota. In: ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. *Introductory Mycology*. 4.ed. New York: John Wiley & Sons, 1996. p. 683- 737.

ARAUJO, M.J.A.M.; BOSCO, S.M.G.; SFORCIN, J.M. *Pythium insidiosum*: inhibitory effects of propolis and geopropolis on hyphal growth. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.47, n.4, p.863-869, 2016.

AZEVEDO, M.I., et al. *Pythium insidiosum*: morphological and molecular identification of Brazilian isolates. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, n.32, p.619-22, 2012.

BAGGA, B. et al. Leap forward in the treatment of *Pythium insidiosum* keratitis. *British Journal of Ophthalmology*, v.102, n.12, p. 1629-1633, 2018.

BAKKALI, F. Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, v.46, n.2, p.446-475, 2008.

BOCCI, V. et al. Studies on the biological effects of ozone Production of transforming growth factor by human blood after ozone treatment. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*, v.8, p108-112, 1994.

BUERGELT, C. et al. Abdominal pythiosis in a Bengal tiger (*Panthera tigris tigris*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v. 37, n.2, p.186-189, 2006.

CAMUS, A.C.; GROOTERS, A.M.; AQUILAR, R.F. Gramulomatus pneumonia caused by *Pythium insidiosum* in a central American jaguar. *Panthera onca*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.16, p. 567-571, 2004.

CHAFFIN, M.K.; SCHUMACHER, J.; MCMULLAN, W.C. Cutaneous pythiosis in the horse. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 11, n. 1, p. 91-103, 1995.

CHATTERJEE, S.; AGRAWAL, D. Azitromycin in the management of *Pythium insidiosum* keratitis. **Cornea**, v.37, n.2, p. e8-e9, 2018.

CHITASOMBAT, M. N *et al.* Clinicopathological feature and outcomes of pythiosis. **International Journal of Infectious Diseases**, v.71, p.99-41, 2018.

DELESPAUL, Q. *et al.* The antifungal activity of essential oils as determined by different screening methods. **Journal of Essential Oil Research**, v. 12, n.2, p. 256-266, 2000.

DO CARMO, P.M.S; UZAL, F. A.; CORREA, F.R; Diseases caused by *Pythium insidiosum* in sheep and goats: a review. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 33, n.1, p. 20–24, 2020.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal Applied Microbiology**, v.88, n.22, p.308-316, 2000.

DOWST, M. *et al.* An unusual case of cutaneous feline pythiosis. **Medical Mycology Case Repots**, v.26, p.57-60, 2019.

FOIL, C.S.O. Update on Pythiosis (Oomycosis). The North American Veterinary Conference. p. 57-63, 1996.

FONSECA A.O.S. *et al.* In vitro reproduction of the life cycle of *Pythium insidiosum* from kunkers' equine and their role in the epidemiology of pythiosis. **Mycopathologia**, v. 177, n.1-2, p.123-127, 2014a.

FONSECA, A.O.S. *et al.* In vitro susceptibility of zoospores and hyphae of *Pythium insidiosum* to antifungals. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.69, n.6, p.1564-1567, 2014b.

FONSECA A.O.S. *et al.* In vitro susceptibility of Brazilian *Pythium insidiosum* isolates to essential oils of some Lamiaceae family species. **Micopathologia**, v.179, n.3-4, p.253-258, 2015a.

FONSECA, A.O. S. *et al.* Treatment of experimental pythiosis with essential oils of *Origanum vulgare* and *Mentha piperita* singly, in association and in combination with immunotherapy. **Veterinary Microbiology**, v.178, n.3-4, p.265-269, 2015b.

GRECCO, F.B. *et al.* Pitiose cutânea em bovinos na região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n.11, 938-942, nov. 2009.

GRIFFITHS, S.P. The use of clove oil as an anaesthetic and method for sampling intertidal rockpool fishes. **J. Fish Biol, London**, v. 57, p. 1453-1464, 2000.

GROOTERS, A.M. Pythiosis, lagenidiosis, and zygomycosis in small animals. **The Veterinary Clinics Small Animal Practice**, v. 33, p. 695-720, 2003.

HILTON, R.E. *et al.* Swamp cancer: a case of human pythiosis and review of the literature. **British Journal of Dermatology**, v.175, p. 394-397, 2016.

ITAQUI, S.R. *et al.* *In vitro* synergism between azithromycin or terbinafine and tropical antimicrobial agents against *Pythium insidiosum*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.60, n.8, p. 5023-5025, 2016.

JESUS F.P. *et al.* *In vitro* activity of carvacrol and thymol combined with antifungals or antibacterials against *Pythium insidiosum*. **Journal de Mycologie Médicale**, v.25, n.2, p. 89-93, 2015.

JESUS, F.P. *et al.* *In vitro* and *in vivo* antimicrobial activities of minocycline in combination with azithromycin, clarithromycin, or tigecycline against *Pythium insidiosum*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.60, n.1, p.87-91, 2016.

JOHNSON, M. D. *et al.* Combination antifungal therapy. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.48, n.3, p.693-715, 2004.

KRAJAEJUN, T. *et al.* Assessment of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification and biotyping of the pathogenic oomycete *Pythium insidiosum*. **International Journal of Infectious Diseases**, v.77, p.61-67, 2018.

KHUNKHET, S. RATTANAKAEMAKORN, P. RAJATANAVIN, N. Pythiosis presenting with digital gangrene and subcutaneous nodules mimicking medium vessel vasculitis. **JAAS Case Reports**, v.1, n. 6, p. 399-402, 2015.

LEAL, A.B.M. *et al.* Pitiose equina no pantanal brasileiro: Aspectos clínico-patológico de casos típicos e atípicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.21, n.4, p.151-156, 2001.

LELIEVRE, L. *et al.* Imported *Pythium insidiosum* keratitis after a swim in Thailand by a contact lens-wearing traveler. **American Journal of Medicine and Hygiene**, v.92, n. 2, p. 2170-173, 2015.

LERKSUTHIRAT, T. *et al.* Evolution of the Sterol Biosynthetic Pathway of the Sterol Biosynthetic Pathway of *Pythium insidiosum* and Related Oomycetes Contributes to Antifungal Drug Resistance. **Antimicrobial Agents and Chemother.**, n. 4, p 1-37, 2017.

LORETO, E.S. *et al.* *In vitro* activities of miltefosine and antibacterial agents from the macrolide, oxazolidinone and pleuromutilin classes against *Pythium insidiosum* and *Pythium aphanidermatum*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.62, n.3, p.1678- 1717, 2018.

LORETO, E.S. *et al.* Efficacy of miltefosine therapy against subcutaneous experimental pythiosis in rabbits. **Journal de Mycologie Médicale**, v.30, n.1, p.1009-1019, 2019.

MARCOLONGO-PEREIRA, C. *et al.* Epidemiologia da pitiose equina na Região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, p.865-868, 24 2012.

MARQUES, S.R. *et al.* The effects of topical application of sunflower-seed oil on open wound healing in lambs. **Acta. Cir. Bras**, v.19, n.3, p.196-209, 2004.

MENDOZA, L.; AJELLO, L.; MCGINNIS, M.R. Infections caused by the oomycetous pathogen *Pythium insidiosum*. **Journal de Mycologie Médical**, v. 6, n. 4, p. 151- 164, apr.1996.

- MILLER, R. I. Investigations into the biology of three 'phycomycotic' agents pathogenic for horses in Australia. **Mycopathologia**, v.81, p. 23-28, 1983.
- NEUFELD, A. *et al.* *Pythium insidiosum* keratitis: a pictorial essay of natural history. *Canadian Journal of Ophthalmology*, v.53, n.2, p. 48-50, 2018.
- PEREIRA, D.I.B. *et al.* Caspofungin *in vitro* and *in vivo* activity against Brazilian *Pythium insidiosum* strains isolated from animals. **Journal of Antimicrobial and Chemother**, v.60, p.1168–1171, 2007.
- PÉREZ, R.C. *et al.* Epizootic cutaneous pythiosis in beef calves. **Veterinary Microbiology**, v. 109, n. (1-2), p. 121-128, 2005.
- PESAVENTO, P. A. *et al.* Cutaneous pythiosis in a nestling white-faced ibis. **Veterinary Pathology**, v.45, n.4, p. 538-541, 2008.
- PINTO, E. *et al.* Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. **Journal of Medical Microbiology**, v. 58, p. 1454-1462, 2009.
- RAINA, V.K. *et al.* Essential oil composition of *Syzygium aromaticum* leaf from Little Andaman, India. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 16, n. 5, p. 334-336, 2001.
- RAO, A. *et al.* Mechanism of antifungal activity of terpenoid phenols resembles calcium stress and inhibition of the TOR pathway. **Antimicrobial Agents and Chemother**, v. 5, p.5062-5069, 2010.
- RIBEIRO, T.C. *et al.* *In vitro* susceptibility of the oomycete *Pythium insidiosum* to metallic compounds containing cadmium, lead, copper, manganese or zinc. **Medical Mycology**, v.55, p.669-672, 2017.
- ROMERO, A. *et al.* Equine pythiosis in the eastern wetlands of Uruguay. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.39, n.7, p.469-475, 2019.
- ROSA, R.L.; BARCELOS, A.L.V.; BAMPI, G. Investigação do uso de plantas medicinais no tratamento de indivíduos com diabetes melito na cidade de Herval D' Oeste - SC. **Rev. bras. plantas medicinais**, v.14, n.2, p. 306-310, 2012.
- SABAHAT, S., PERWEEN T. *In Vitro* Antibacterial Activity Of Clove Against Gram Negative Bacteria. Pakistan **Journal of Botany**.v.40, n.5, p.2157-2160, 2008.
- SALIPANTE, S. J. *et al.* Molecular diagnosis of subcutaneous *Pythium insidiosum* infection using PCR screening and DNA sequencing. **Journal of Clinical Microbiology**, v.50, n. 4, p. 1480-1483, 2012.
- SANTURIO, J.M. *et al.* Pitiose: uma micose emergente. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.34, p.1-14, 2006.
- SCHERER, R. *et al.* Composition and antioxidant and antimicrobial activities of clove, citronella and palmarosa essential oils. **Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu**, v.11, n.4, p.442-449, 2009.
- SCHLOEMER, N. J. *et al.* Fatal disseminated *Pythium insidiosum* infection in a child with diamond-Blackfan anemia. **Infectious Diseases in Clinical Practice**, v.21 n.4, p.24-26, 2013.
- SERMSATHANASAWADI, N. *et al.* Outcomes and factors influencing prognosis in patients with vascular pythiosis. **Journal of Vascular Surgery**, v.64, n.2, p.411-417, 2016.

- SOARES, L.M.C. *et al.* Feline subcutaneous pythiosis. **Ciência Rural**. v. 49, n.03, 2019.
- SOUTO, E.P.F. *et al.* Esophageal pythiosis in an ostrich (*Struthio camelus*). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.71, n.3, p.1081-1084, 2019.
- SRIPHANA U. *et al.* New ligman esters from *Alyxia schlechteri* and antifungal activity against *Pythium insidiosum*. **Fitoterapia**. v.91, p. 39-43, dec. 2013a.
- SPRIPHANA, U. *et al.* Clauralia e from the roots of *Clausena harmandiana* and antifungal activity against *Pythium insidiosum*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 36, p.1078-1083, 2013 b.
- SUTHIWONG J. *et al.* Coumarinoid from the fruits of *Micromelum facatum*. **Fitoterapia**. v.94, p.134-141, apr. 2014.
- TABOSA, I.M. *et al.* Outbreaks of pythiosis in two flocks of sheep in northeastern Brasil. **Veterinary Pathology**. v. 41, p. 412-415, jul. 2004.
- VALENTE J.S.S. *et al.* In Vitro Activity of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) in Its Free Oil and Nanoemulsion Formulations Against *Pythium insidiosum*. **Mycopathologia**, v.181, n. 11-12, p.865-869, 2016a.
- VALENTE J.S.S. *et al.* In vitro susceptibility of *Pythium insidiosum* to *Melaleuca alternifolia*, *Mentha piperita* and *Origanum vulgare* essential oils combinations. **Mycopathologia**, v.181, n.5-6, 2016b.
- VALENTE J.S.S. *et al.* In vitro anti-*Pythium insidiosum* activity of biogenic silver nanoparticles. **Medical Mycology**, v.57, n.7, p.858-863, 2018.
- VIDELA, R. *et al.* Vulvar pythiosis in two captive camels (*Camelus dromedarius*), **Medical Mycology**, v. 50, n.2, p. 219-24, 2011.
- WEIBLEN, C. *et al.* Seroprevalence of *Pythium insidiosum* infection in equine in Rio Grande do Sul, Brazil, **Ciência Rural**, v.46, n.1, p.126-131, 2016.
- WELLEHAN, J.F.X. *et al.* Pythiosis in a dromedary camel (*Camelus dromedarius*), **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 35, p. 564-568, 2004.
- YANG, B.H. *et al.* Activation of vanilloid receptor 1 (VR1) by eugenol. **Journal of Dental Research**, v.82, p.781-785, 2003.
- ZAMBRANO, C.G. *et al.* Óleo de girassol ozonizado: atividade anti-*Pythium insidiosum*, **Revista Brasileira de Medicina equina**, v. 13, n. 84, p. 18-20, 2019.
- ZANETTE, R.A. *et al.* Micafungin alone and in combination therapy with deferasirox against *Pythium insidiosum*, **Journal de Mycologie Médicale**, v.25, n.1, p. 91-94, 2015.
- ZHU L.; GIL-LAMAIGNERE C.; MÜLLER F.C. Effects of several antifungal drug combinations against clinical and environmental isolates of *Cryptococcus neoformans* from China, **Mycoses**.v.47, n.7, p.319-25, 2004.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

- Amostra transconjugante 1, 2, 6, 9, 10
- Ampicilina 2, 6, 7, 8, 10, 11
- Análise de polpa de goiaba 49
- Análises microbiológicas 49, 50, 53
- Antimicrobial peptides 14, 15, 20, 21, 22, 23, 24, 25

### B

- Bolores 49, 50, 52, 53

### C

- Concentração Inibitória Mínima (CIM) 30, 34, 35, 36, 37
- Conjugação bacteriana 1, 2
- Contagem em profundidade 51
- Contaminação 31, 49, 50
- Controle sanitário 49, 51
- Cultura micelial 30

### D

- Doenças transmitidas por alimentos 50

### E

- Enteropatógenos 2, 22
- Ergosterol 30, 37
- Escherichia coli* 1, 14, 20, 22, 23, 29, 33
- Eugenia caryophyllata* 30, 31, 33, 34, 36, 37

### H

- HCV 44, 45, 46, 47, 48
- Helianthus annuus* L. 30, 31, 33, 34, 36, 37
- Hepatite C 44, 45, 46

### I

- Imunocromatografia 44, 45, 46, 47

### L

- Leveduras 49, 50, 52, 53

## M

Mesófilas 49, 52, 53

Microbiotas patógenos 49, 53

Microdiluição em caldo 30, 34

Micro-organismo 30, 37, 49, 50

Multifunctional substances 14, 15

## O

Óleos essenciais 30, 32, 33, 37, 38, 39

Oomiceto 30, 31, 36, 38

## P

Pitiose 30, 31, 32, 33, 37, 38, 39, 40, 41, 42

Plantas bioativas 30, 38

Plasmídios 1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 13

Pour Plate 51

Proteins 14, 15, 18, 20, 22, 23, 24

Protocolo M-38A2 do CLSI 30

Psicrófilas 49

*Pythium insidiosum* 30, 31, 39, 40, 41, 42, 43

## R

RDC n° 331 publicada em 23 de dezembro de 2019 51

Resistência antimicrobiana 1, 2, 7, 11

Restaurante da Universidade Federal do Ceará 49, 51

## S

*Shigella sonnei* 1, 2, 12, 13, 14, 15, 23, 25, 29

Shigellosis 2, 12, 13, 14, 15, 21, 23, 24

Spreader Plate 49, 51, 52

*S. sonnei* SS9 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 16, 19, 21, 26, 27

Substância antagonista 2, 5, 6, 7, 8, 11, 23

## T

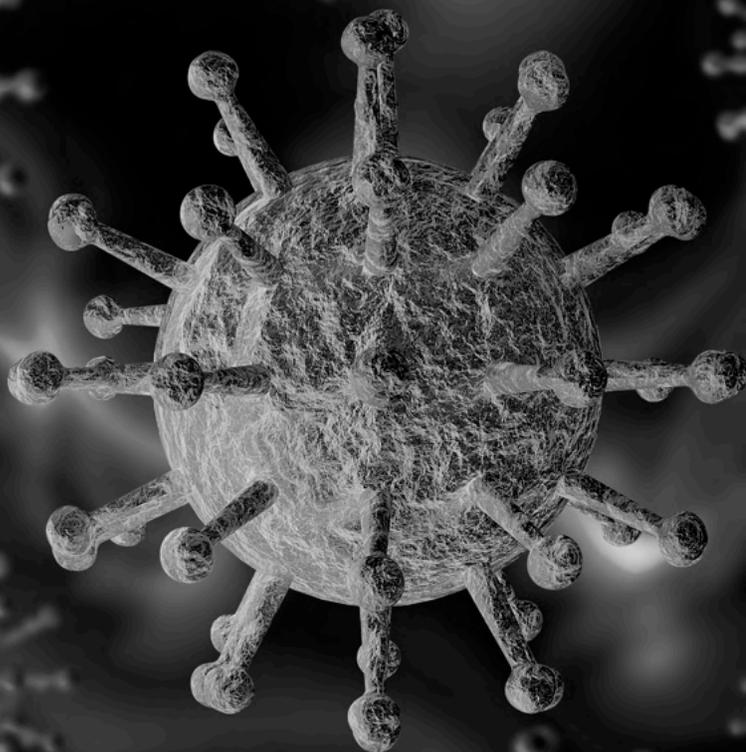
Técnica de checkerboard 30, 35

Termófilas 49

Teste de suscetibilidade 30, 35

Teste Suplementar Geenius HCV Supplemental Assay 44

Trimetropima 2, 8

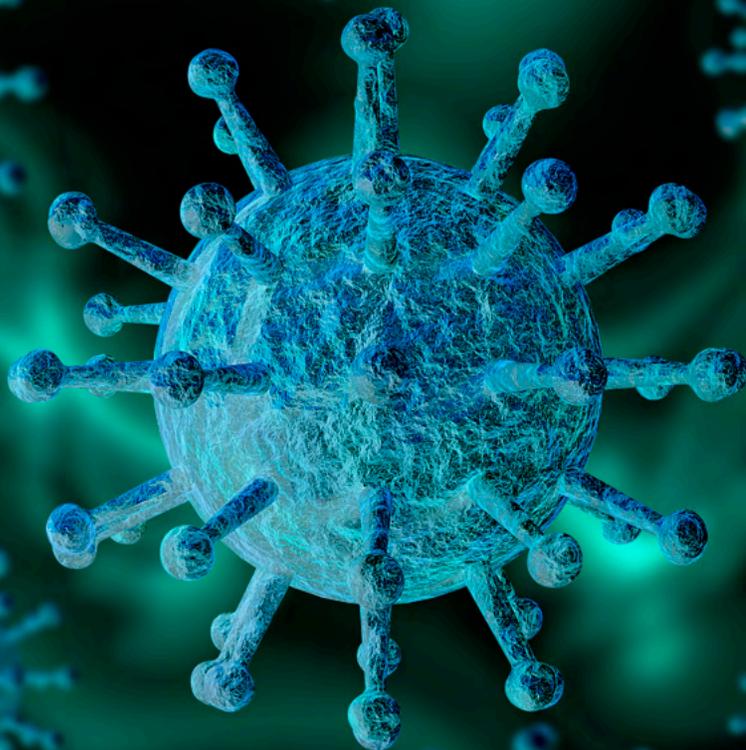


-  [www.arenaeditora.com.br](http://www.arenaeditora.com.br)
-  [contato@arenaeditora.com.br](mailto:contato@arenaeditora.com.br)
-  [@arenaeditora](https://www.instagram.com/arenaeditora)
-  [www.facebook.com/arenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/arenaeditora.com.br)

# Microbiologia:

Geração de conhecimento e caráter multidisciplinar

  
Ano 2022



-  [www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)
-  [contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)
-  [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
-  [www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)

# Microbiologia:

Geração de conhecimento e caráter multidisciplinar