

MICROBIOLOGIA:

Clínica, Ambiental e Alimentos

2

Daniela Reis Joaquim de Freitas
(Organizadora)

 **Atena**
Editora
Ano 2021

MICROBIOLOGIA:

Clínica, Ambiental e Alimentos

2

Daniela Reis Joaquim de Freitas
(Organizadora)

 **Atena**
Editora
Ano 2021

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes editoriais

Natalia Oliveira

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremonesi

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

Imagens da capa

iStock

Edição de arte

Luiza Alves Batista

Revisão

Os autores

2021 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2021 Os autores

Copyright da Edição © 2021 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-NãoDerivativos 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 Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Profª Drª Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Arnaldo Oliveira Souza Júnior – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Crisóstomo Lima do Nascimento – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros
Prof. Dr. Humberto Costa – Universidade Federal do Paraná
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. José Luis Montesillo-Cedillo – Universidad Autónoma del Estado de México
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Profª Drª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Miguel Rodrigues Netto – Universidade do Estado de Mato Grosso
Prof. Dr. Pablo Ricardo de Lima Falcão – Universidade de Pernambuco
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Ribeiro Simon Cavalcanti – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Jayme Augusto Peres – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

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
Profª Drª Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª 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
Profª Drª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra
Profª Drª 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
Profª Drª 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 Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federac 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
Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade do Vale do Sapucaí
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Welma Emidio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Profª Drª Ana Grasielle Dionísio Corrêa – Universidade Presbiteriana Mackenzie
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann Junior – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Sidney Gonçalo de Lima – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Profª Drª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Edna Alencar da Silva Rivera – Instituto Federal de São Paulo
Profª Drª Fernanda Tonelli – Instituto Federal de São Paulo,
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Microbiologia: clínica, ambiental e alimentos 2

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Giovanna Sandrini de Azevedo
Indexação: Gabriel Motomu Teshima
Revisão: Os autores
Organizadora: Daniela Reis Joaquim de Freitas

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

M626 Microbiologia: clínica, ambiental e alimentos 2 /
Organizadora Daniela Reis Joaquim de Freitas. – Ponta
Grossa - PR: Atena, 2021.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5983-446-4

DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.464210109>

1. Microbiologia. 2. Clínica. 3. Ambiental. 4. Alimentos.
I. Freitas, Daniela Reis Joaquim 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

contato@atenaeditora.com.br

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

O livro “Microbiologia: Clínica, Ambiental e Alimentos 2” é uma obra composta por trabalhos científicos na forma de artigos originais e de revisão, todos relacionados ao cultivo e triagem de micro-organismos.

A Microbiologia é uma área bastante ampla, com interface não só com as Ciências Biológicas, mas também com a área de Saúde, como Medicina, Enfermagem, Medicina comunitária, Nutrição, Farmacologia, Imunologia, Saúde coletiva, Farmácia e áreas correlatas. Ao longo destes 14 capítulos serão discutidos avanços da ciência e serão revistos conceitos importantes dentro da Microbiologia básica e clínica, Bacteriologia, Micologia, Parasitologia, Virologia, além de propor a discussão destes temas de forma atualizada e dinâmica. Este livro será, portanto, muito importante para auxiliar estudantes e profissionais no reconhecimento e caracterização de micro-organismos, na prevenção e no combate a doenças causadas pelos mesmos ou ainda para sua utilização industrial, comercial, medicinal e nutricional.

Esta obra, bem como todas as publicações da Atena Editora, passou pela avaliação de um Comitê de pesquisadores com mestrado e doutorado em programas de pós-graduação renomados no Brasil. Assim, apresentamos ao leitor um trabalho de excelente qualidade, atualizado e devidamente avaliado por pares.

Esperamos que gostem da leitura.

Daniela Reis Joaquim de Freitas

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

FORMAÇÃO DE BIOFILME POR BACTÉRIAS


Marly Marques Rego Neta
Inara Viviane de Oliveira Sena
Antonio Rosa de Sousa Neto
Josie Haydée Lima Ferreira
Daniela Reis Joaquim de Freitas

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4642101091>

CAPÍTULO 2..... 14

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DE POÇOS RESIDENCIAIS NO ENTORNO DO CEMITÉRIO SANTO ANTÔNIO, NA CIDADE DE PORTO VELHO-RO/BRASIL

Deizieny Aires da Silva Almeida
Iasmin Pinheiro de Sousa
Taciára Letícia Oliveira Mendes
Helen Queite Guterres Barros Gazola
Adriele Maiara Carneiro Muniz

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4642101092>

CAPÍTULO 3..... 20

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA FARINHA DE MANDIOCA (*Manihot esculenta*, Crantz) DO TIPO UARINI, COMERCIALIZADA NA FEIRA DA MANAUS MODERNA NA CIDADE DE MANAUS-AM

Hualef Sérgio da Silva Pereira
Raynara Inácio de Araújo
Williene Coelho da Silva
Uziel Ferreira Suwa

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4642101093>

CAPÍTULO 4..... 28

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DE *Sporothrix brasiliensis*: AGENTE DE ESPOROTRICOSE DE TRANSMISSÃO ZONÓTICA

Fernanda de Andrade Galliano Daros Bastos
Renata Botti Okar
Louise Tamirys Camargo
Regielly Caroline Raimundo Cognialli
Flavio de Queiroz-Telles


 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4642101094>

CAPÍTULO 5..... 38

Acinetobacter baumannii: INFECÇÕES ASSOCIADAS, RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA, TRATAMENTO, PREVENÇÃO E CONTROLE

Ivina Meneses dos Santos e Silva
Júlia Rodrigues Holanda


Rebeca dos Santos Miranda de Oliveira
Antonio Rosa de Sousa Neto
Inara Viviane de Oliveira Sena
Rosângela Nunes Almeida
Kelly Myriam Jimenez de Aliaga
Daniela Reis Joaquim de Freitas

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4642101095>

CAPÍTULO 6..... 49

BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO EM LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS: PROCESSO DE ISOLAMENTO EM NÓDULOS RADICULARES

Mayan Blanc Amaral
Edevaldo de Castro Monteiro
Tamiris dos Santos Lopes
Thiago Neves Teixeira
Bruno José Rodrigues Alves

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4642101096>

CAPÍTULO 7..... 55

CAPSAICINA COMO UMA MOLÉCULA BIOATIVA PROMISSORA CONTRA MICRO-ORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA MÉDICA E AGRÍCOLA: UMA REVISÃO DE LITERATURA


Maria Gabriela Ferreira
Meliza Arantes de Souza Bessa
Ralciane de Paula Menezes

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4642101097>

CAPÍTULO 8..... 69

HIDRÓLISE DO AMIDO DE MILHO: LIBERAÇÃO DE AÇÚCARES FERMENTECÍVEIS PARA FABRICAÇÃO DE ETANOL

Paulo Henrique Silva Lopes
Adeline Cristina Pereira Rocha
David Lee Nelson
Vivian Machado Benassi

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4642101098>

CAPÍTULO 9..... 81

ESTUDO DE CASO: ANÁLISE DOS PARÂMETROS LABORATORIAIS E CLÍNICOS DE PACIENTE COM SEPSE EM HOSPITAL PRIVADO DE MINAS GERAIS

Mariana de Souza Carvalho
Isadora Moreira Costa do Nascimento Nogueira

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4642101099>

CAPÍTULO 10..... 91

BIOPROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS ISOLADAS NO MANGUEZAL DO LITORAL DO PARANÁ: ESTUDO PRELIMINAR

Cláudia Cristina da Conceição Munhoz


Matheus Sampaio de Araujo
Juciane Modesto dos Santos
Caroline Alves Cordeiro
Camila Souza Almeida dos Santos
Kassiely Zamarchi
Nigella Mendes de Paula
Gabriela Xavier Schneider
Alessandra Tenório Costa
Danyelle Stringari
Josiane Aparecida Gomes-Figueiredo

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.46421010910>

CAPÍTULO 11..... 106

IDENTIFICAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS PRESENTES NO CÓRREGO ALVARENGA DO COMPARTIMENTO DO BRAÇO DO ALVARENGA DO RESERVATÓRIO BILLINGS, NO MUNICÍPIO DE SÃO BERNARDO DO CAMPO – SÃO PAULO

Vitoriana Barbosa Veiga Reis
Marta Ângela Marcondes
Mônica Teixeira Andrade Leal
André Contri Dionizio

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.46421010911>

CAPÍTULO 12..... 116

PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA BIODIGESTÃO ANAERÓBICA


Daniela Cristina Souza Oliveira
Ludimila Rodrigues Dayrell
Marcus Henrique Canuto
David Lee Nelson
Arlete Barbosa dos Reis
Vivian Machado Benassi

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.46421010912>

CAPÍTULO 13..... 129

RELATO DE INFESTAÇÃO POR PIOLHOS *Gliricola porcelli* EM PORQUINHO-DA-ÍNDIA (*Cavia porcellus*) EM RONDÔNIA, BRASIL

Ketly Lorrainy Rodrigues de Oliveira Lima
Renato da Silva
Kétury Silva dos Passos
Jussania Barbosa Oliveira
Rafael M. Godoi
Mayra Araguaia Pereira Figueiredo


 <https://doi.org/10.22533/at.ed.46421010913>

CAPÍTULO 14..... 134

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS ASSOCIADAS AO BARBATIMÃO (*STRYPHODENDRON* SP.) NATIVO DO CERRADO

Lavínia Cipriano

Gabriela Moraes Silva
Cristina Paiva de Sousa
Felipe de Paula Nogueira Cruz

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.46421010914>

SOBRE A ORGANIZADORA.....	147
ÍNDICE REMISSIVO.....	148

CAPÍTULO 1

FORMAÇÃO DE BIOFILME POR BACTÉRIAS

Data de aceite: 01/09/2021

Marly Marques Rego Neta

Programa de Pós-Graduação em Enfermagem,
Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Inara Viviane de Oliveira Sena

Programa de Pós-Graduação em Enfermagem,
Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Antonio Rosa de Sousa Neto

Departamento de Enfermagem, Universidade
Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Josie Haydée Lima Ferreira

Programa de Pós-Graduação em Ciências
e Saúde; Departamento de Parasitologia e
Microbiologia, Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Daniela Reis Joaquim de Freitas

Programa de Pós-Graduação em Enfermagem;
Departamento de Parasitologia e Microbiologia,
Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

RESUMO: Biofilmes são comunidades biológicas organizadas, onde as bactérias que os compõem formam estruturas coordenadas e funcionais; estes micro-organismos estão submersos em matrizes poliméricas produzidas por eles próprios, para sua proteção e desenvolvimento, favorecendo relações simbióticas e permitindo a sobrevivência em ambientes hostis. São capazes

de aderir a superfícies inertes, e colonizar material médico-hospitalar. Na formação inicial do biofilme ocorre troca de substâncias entre o meio interno e o externo, através de gradiente de concentração. Infecções relacionadas com o biofilme normalmente representam enormes desafios para a saúde pública, devido a sua capacidade de resistência a fármacos. No hospedeiro, os biofilmes são fatores que protegem os patógenos das defesas do sistema imunológico, e oferecem proteção contra os desafios mecânicos e químicos, tornando-os persistentes e resistentes a diferentes tratamentos. Neste capítulo serão vistos os principais micro-organismos produtores de biofilme e uma visão geral de seus mecanismos de atuação.

PALAVRAS-CHAVE: Biofilmes; espécies bacterianas; mecanismos de resistência em biofilmes.

BIOFILM FORMATION BY BACTERIA

ABSTRACT: Biofilms are organized biological communities, where the bacteria that compose them, form coordinated and functional structures; these microorganisms are submerged in polymeric matrices produced for their protection and development, favoring symbiotic relationships, and allowing them to survive in hostile environments. They can adhere to inert surfaces and colonize medical and hospital material. The initial formation of biofilm occurs through an exchange of substances between the internal and external environment, through a concentration gradient. Biofilm-related infections

typically pose enormous public health challenges due to their drug-resistance capacity. In the host, biofilms are factors that protect pathogens from immune system defenses and offer protection against mechanical and chemical challenges, making them persistent and resistant to different treatments. In this chapter, the main biofilm-producing microorganisms and an overview of their mechanisms of action will be seen.

KEYWORDS: Biofilms; bacterial species; resistance mechanisms in biofilms.

1 | INTRODUÇÃO

O biofilme é uma comunidade biológica com um elevado grau de organização, onde as bactérias formam estruturas coordenadas e funcionais, estando estas, embebidas em matrizes poliméricas produzidas por elas próprias. A associação dos micro-organismos em biofilme constitui uma forma de proteção ao seu desenvolvimento, favorecendo relações simbióticas e permitindo a sobrevivência em ambientes hostis (NASCIMENTO et al., 2016). Um dos principais fatores de virulência dos biofilmes é a capacidade dos micro-organismos que o compõem aderirem a superfícies inertes, e colonizarem material médico invasivo como cateteres e próteses (SILVA et al., 2020).

A maioria dos micro-organismos vive dentro de um ecossistema estruturado por biofilmes e não em vida livre. A formação de biofilme é um mecanismo de defesa que assegura a sua sobrevivência em ambientes adversos - são amplamente definidos como conjuntos de micro-organismos que se comunicam, empregando a detecção do *quórum sensing* e seus produtos extracelulares associados a uma interface ligados a superfície biótica ou abiótica. A formação de micro colônias envolta por matriz de exopolissacarídeo (EPS) desenvolve-se promovendo uma agregação bacteriana, formando biofilmes com formas reversíveis e irreversíveis (SILVA et al., 2020).

Sua formação tem início com adesão primária destas bactérias em sua forma planctônica a uma determinada superfície; este processo é considerado complexo, pois ocorre através da interações físico-químicas não específicas entre a bactéria e a superfície abiótica (inanimada, como plástico e metais por exemplo). Esta interação ocorre aleatoriamente, através de força gravitacional, movimento browniano ou de forma ordenada, através de mecanismos de cada patógeno como quimiotaxia e motilidade através de flagelos e *pili*. Este estado é reversível, assim, realizado por interações físico-químicas não específicas de longo alcance entre os micro-organismos, incluindo forças hidrodinâmicas, hidrofóbicas, eletrostáticas, Forças de Van der Waals e força de atração e repulsão entre esta interação, que será o fator primordial para determinação desta fase de adesão. Estes mecanismos ainda estão em fase de estudo e não são totalmente elucidados (TRENTI; GIORDANI, MACEDO, 2013).

Enquanto isso, a adesão em superfícies bióticas (células e tecidos animais e vegetais por exemplo) é observada através de interações moleculares mediadas por ligações específicas (ligante-receptor). Depois de aderidos, ocorre a proliferação destes

micro-organismos levando a um acúmulo dos mesmos; são produzidas substâncias que tem a função de atrair outros micro-organismos, e fazer com que as células bacterianas produzam EPS, que se comporta como uma membrana protetora que recobre totalmente a comunidade bacteriana, tornando o ambiente interno a ele diferenciado, assim, podendo ocorrer alterações de pH, temperatura, umidade, produção de toxinas, expressão dos fatores de virulência e até mesmo troca plasmidial (TASNEEM et al., 2018).

As substâncias produzidas, fazem com que a densidade bacteriana aumente, através da presença de moléculas auto indutoras que ao se acumular induzem a transcrição de genes específicos, regulando várias funções bacterianas, como motilidade, virulência e a capacidade de produção de EPS. Este processo de comunicação pode ser encontrado em diversos micro-organismos, muitas vezes associados a bactérias patogênicas e é referido como *Quorum sensing* (sistema de comunicação intra e interespécies de micro-organismos) (SILVA et al., 2020).

A segunda etapa é a adesão secundária ou adesão irreversível. As bactérias que se aderem à superfície (colonizadores primários) passam a se multiplicar, formando macro colônias, estas, começam a sintetizar EPS e estabelecem o processo de adesão. Durante essa fase, os patógenos são capazes de se ligar a células da mesma ou de diferentes espécies (colonizadores secundários), que podem utilizar o EPS como substrato, formando agregados com os micro-organismos já aderidos a superfície (STOODLEY et al., 2002, MENOITA, 2012).

Após estruturado a formação inicial do biofilme, ocorre o processo de troca de substâncias entre o meio interno e o externo. Este transporte é possível através do gradiente de concentração, e pelos sinalizadores produzidos pelos micro-organismos, fazendo com que o EPS seja mais seletivo, e as bactérias mais próximas a extremidades do mesmo tenham o metabolismo mais ativo do que as que foram aderidas inicialmente (COSTA; JUNIOR, 2017). O resumo de todo o processo de formação do biofilme se encontra na Figura 1.

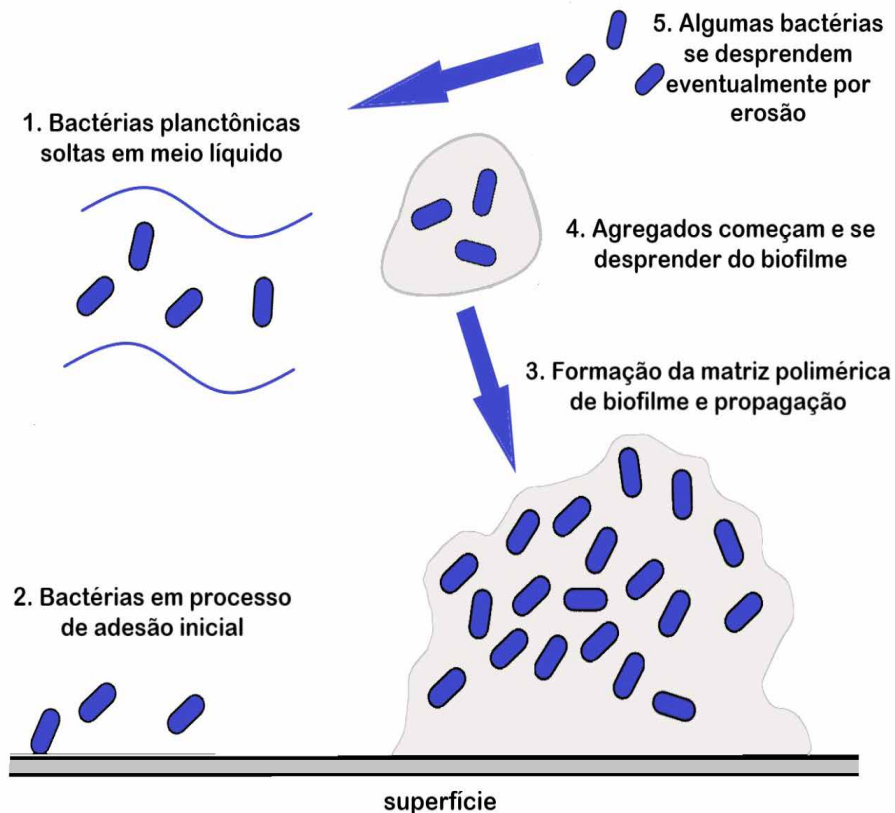


Figura 1. Processo de formação de biofilme.

Fonte: Os Autores, 2021.

Infecções relacionadas com o biofilme normalmente representam enormes desafios para a saúde pública, devido a sua capacidade de resistência a fármacos. No hospedeiro, os biofilmes são fatores que protegem os patógenos das defesas do sistema imunológico, e oferecem proteção contra os desafios mecânicos e químicos (MUHAMMAD et al., 2020).

2 | PRINCIPAIS ESPÉCIES FORMADORAS DE BIOFILME

Diversas são as bactérias formadoras de biofilmes de importância clínica, sendo muitas delas responsáveis pela cronicidade de um mesmo grupo de doenças. Os microorganismos comumente associados a infecções crônicas no ambiente hospitalar são: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis* e *Burkholderia cepacia* (ABDALLAH, 2014; MUHAMMAD et al., 2020) (Figura 2).

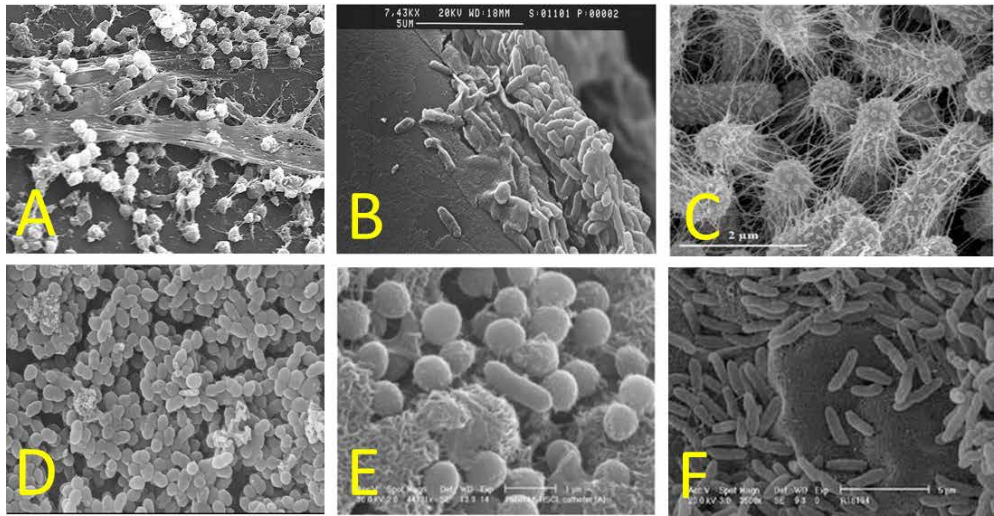


Figura 2. Principais bactérias formadoras de biofilme em material médico-hospitalar. A, *Staphylococcus* sp; B, *Pseudomonas aeruginosa*; C, *Klebsiella pneumoniae*; D, *Enterococcus faecalis*; E, *Proteus mirabilis*; e F, *Burkholderia cepacia*.

A, Fonte: <https://pixnio.com/pt/fotos/ciencia/imagens-de-microscopia/staphylococcus-aureus>; Autores: Rodney M. Donlan, Ph.D., Janice Carr, USCDCP

B, Fonte DOI: 10.1371/journal.pone.0108478.g001

C, Fonte: <https://arxiv.org/abs/1302.3663>

D, Fonte: DOI: 10.5812 / jjm.30000

E, Fonte: DOI: 10.4161 / viru.2.5.17783

F, Fonte: <https://genome.jgi.doe.gov/portal/bur94/bur94.home.html>

Em seus biofilmes é possível identificar polissacarídeos em comum como manose, galactose, glucose (mais abundantes) e N-acetil-glucosamina, ácido galacturônico, arabinose, fucose, rhamnose e xilose. Algumas apresentam polissacarídeos não específicos, mas que aumentam em resposta ao estresse, como o ácido colânico (antígeno M) na *Escherichia coli* e o alginato na *Pseudomonas aeruginosa* (TASNEEM et al., 2018).

Em alguns casos, patógenos responsáveis por quadros infecciosos agudos recorrentes como o *Haemophilus influenzae* em infecções pulmonares, por exemplo, acabam por danificar o órgão possibilitando a colonização por micro-organismos mais agressivos, como a *P. aeruginosa*, levando a piora do prognóstico. Alguns trabalhos mais recentes indicam que algumas cepas de *H. influenzae* também podem formar biofilme (WALKER et al., 2017).

Em geral, as infecções relacionadas a biofilmes funcionam como agravantes de um quadro clínico inicial que idealmente não pressupunha presença bacteriana. Diante disso, doenças de ordem genética ou doenças que não afetam órgãos ou tecidos específicos (coração, pulmão e rins, por exemplo) podem debilitar o paciente tornando-o susceptível

ao desenvolvimento de infecções, como é o caso da fibrose cística. Outras enfermidades, como infecções em próteses implantadas (PERCIVAL et al., 2015), ferimentos crônicos (SARHEED et al., 2016) e infecções em cateteres (SIMIONI et al., 2019) podem desenvolver-se devido à carência de cuidados durante os procedimentos cirúrgicos e ambulatoriais envolvendo, inclusive, a microbiota do próprio paciente (COSTA; JUNIOR, 2017).

Independente do fator que tornou o indivíduo susceptível à colonização bacteriana, torna-se importante conhecer as peculiaridades de cada espécie durante a formação de seu biofilme, a fim de buscar as melhores estratégias para a sua erradicação (MUHAMMAD et al., 2020). No presente capítulo quatro patógenos foram escolhidos para detalhamento estrutural de seus biofilmes por impactarem negativamente no prognóstico de algumas doenças

a. *Pseudomonas aeruginosa*

A *Pseudomonas aeruginosa* compõe o grupo dos bacilos Gram-negativos não-fermentadores. Seu biofilme difere dos demais por sua matriz constituir-se predominantemente de alginato (monômeros de ácido manurônico e ácido gulurônico), polímero responsável pela aparência mucóide das colônias quando cultivadas em meio de cultura. Além disso, açúcares como PEL-glicose e PSL-manose também podem ser encontrados (FLEMMING et al., 2016).

O alginato aprimora a estrutura tridimensional do biofilme, previne a fagocitose por células do hospedeiro e liga-se a antibióticos catiônicos como aminoglicosídeos. A regulação da hidrólise do alginato mediante atividade enzimática do biofilme ocorre através de ativação genética, e isso pode causar a liberação das células na superfície do biofilme, contribuindo para a sua dispersão (OMAR et al., 2017).

Além do alginato, o segundo maior componente do biofilme de *P. aeruginosa* é o DNA extracelular, que atua estabilizando a matriz do biofilme. É liberado através dos mecanismos de sinalização célula-célula e através de estruturas como *pili* e flagelo (SHARMA et al., 2014).

Importante fator de virulência, o sistema *quorum sensing* de *P. aeruginosa* é regulado a partir de dois tipos de moléculas sinalizadoras: N-acil-homoserina lactonas (do inglês N-acylhomoserine lactones – AHL) e 4-quinolona (SHARMA et al., 2014). Quando em altas concentrações, essas moléculas indicam que a população bacteriana está aumentada e, assim, ao ligarem-se a receptores específicos, estes sinalizam que deve ser restringida a expressão de genes relacionados ao aumento da densidade celular. Além disso, o *quorum sensing* é importante no controle da produção de pioverdina, piochelina e piocianina, os quais são sideróforos (composto orgânico que atua na captação de ferro pelos organismos como bactérias) (OMAR et al., 2017) e podem auxiliar na formação dos biofilmes; e na prevenção do acúmulo de óxido nítrico que é liberado durante respiração anaeróbia sendo tóxico para esse patógeno quando em altas concentrações (SHARMA et al., 2014).

A *P. aeruginosa* cresce mais rápido quando em monocultura, formando um biofilme

com estrutura semelhante ao formato de um cogumelo. A *P. aeruginosa* possui como um dos mecanismos de defesa a baixa permeabilidade de membrana, pois o bacilo limita a entrada de antibióticos ao alterar suas proteínas de transporte como as porinas, por exemplo. Isso faz com que ocorra o efluxo de antibióticos para fora da célula, não permitindo o acúmulo dos mesmos no citoplasma da célula bacteriana (FLEMMING et al., 2016).

b. *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*

Do gênero *Staphylococcus*, destacam-se duas espécies relacionadas a infecções nosocomiais: *S. aureus* (coagulase positivo) e *S. epidermidis* (coagulase negativo). O *S. aureus* pode ser encontrado colonizando adultos saudáveis e seu aparecimento em infecções nosocomiais deve-se à contaminação advinda do próprio paciente ou da equipe que lhe presta atendimento (SCHILCHER; HORSWILL, 2020).

Por outro lado o *S. epidermidis*, que compõe a microbiota epitelial humana, é comumente encontrado em pacientes imunocomprometidos, embora também esteja presente em pacientes saudáveis, causando infecções devido ao contato com mucosas, traumas ou implantes (OTTO, 2018). Ambos são patógenos oportunistas que podem apresentar fenótipo formador de biofilmes.

Em estudo publicado por Rohde e colaboradores (2007) com cepas isoladas de próteses articulares de quadril e joelho, cerca de 69% das cepas pesquisadas de *S. epidermidis* apresentaram fenótipo formador de biofilme; enquanto para o *S. aureus*, todas as cepas expressaram esse fenótipo. Em estudo com cateteres urinários infectados por essas mesmas bactérias formadoras de biofilmes foi observado que a utilização de vancomicina eliminava apenas as bactérias planctônicas, incluindo as resistentes à meticilina (MRSA), mas o biofilme se mantinha como uma espécie de reservatório bacteriano. Os autores concluíram que, visando à erradicação bacteriana, a infecção por *S. aureus* requereria maiores cuidados que a infecção por *S. epidermidis* principalmente quando se trata de cepas resistentes MRSA, causadoras das infecções mais graves (BATISTA et al., 2018).

As cepas do gênero *Staphylococcus* formam um biofilme multicamada envolto por glicocálice ou por *slimes*, que são estruturas semelhantes a cápsulas que auxiliam na aderência a superfícies de células e de implantes sintéticos enquanto inibem a fagocitose pelas células de defesa do hospedeiro. A parede da célula bacteriana é constituída principalmente por peptidoglicano, além de ácido ribitol teicóico (Polissacarídeo A em *S. aureus*) e ácido glicerol teicóico (Polissacarídeo B, fator de virulência em *S. epidermidis*) (OTTO, 2018).

Quando o ácido teicóico é ancorado a lipídios de membrana é conhecido como ácido lipoteicóico. O biofilme, portanto, é composto por esses polissacarídeos e por proteínas bacterianas e do hospedeiro. Ambas as espécies têm a capacidade de expressar diversas adesinas que permitem sua fixação em proteínas da matriz extracelular do hospedeiro, favorecendo sua adesão a superfícies poliméricas ou metálicas presentes em implantes, por exemplo (SCHILCHER; HORSWILL, 2020).

Dentre a adesinas, a responsável pela adesão intercelular é conhecida como adesina polissacarídica intercelular (polysaccharide intercellular adhesin, PIA) também chamada de poli-N-acetil- glucosamina (PNAG). Considerada importante fator de virulência, essa adesina é formada pelo polissacarídeo poli-N-acetil-β (1,6)-glucosamina cuja produção pode ser estimulada por condições de anaerobiose como, por exemplo, em biofilmes formados em fermentos profundos. Quando desacetilada, a PIA libera grupamentos que tornam o ambiente positivamente carregado, o que facilita a adesão entre as células, pois essas possuem carga negativa em sua superfície devido a presença do ácido teicóico (OTTO, 2018). Além da proteína polissacarídica intercelular, o DNA extracelular (eDNA) exerce papel importante na formação de biofilmes desse gênero, pois a proximidade entre células proporcionada pelo biofilme somada a presença de eDNA fornecem as condições necessárias para a troca de material genético. O eDNA atua como componente estrutural da matriz polimérica, facilita a agregação intercelular e contribui como fator de virulência, entre outras funções. Em biofilmes de *S. aureus* é visto como uma importante adesina estrutural para a matriz do biofilme, se comparado ao biofilme de *S. epidermidis* (DOROSHENKO et al., 2014).

A presença de proteínas de superfície pode influenciar os micro-organismos de maneiras diferentes. A formação de biofilme de *S. aureus* também está associada com a produção de proteínas ancoradas à superfície e, quando estas são degradadas por proteases, a formação de biofilme é inibida, contrariamente ao que acontece com *S. epidermidis* em que a formação é estimulada (ARCIOLA; CAMPOCCIA; MONTANARO, 2018).

Além de cepas PIA-dependentes, para uma mesma espécie é possível encontrar cepas conhecidas como PIA-independentes que utilizam adesinas diferentes durante a adesão primária à superfície e, assim constituir o biofilme. Cepas de *S. epidermidis* e *S. aureus*, por exemplo, utilizam respectivamente as proteínas Aap e Bap como adesinas intercelulares, enquanto algumas cepas de *S. aureus* resistentes à metilina (MRSA) utilizam proteínas ligantes de fibronectina (fibronectin-binding proteins, FnBPs) que atuam no biofilme em maturação (SCHILCHER; HORSWILL, 2020).

As alterações genéticas como a deleção de um dos genes relacionados à produção de adesinas influencia de maneira diferente cada uma dessas proteínas (PIA e FnBPs). A deleção do gene *atl*, por exemplo, causa prejuízo na formação de biofilmes dependentes de proteínas ligantes de fibronectina, mas não há modificação na formação de biofilmes dependente de PIA. Outros genes que, quando bloqueados, interferem nessas duas adesinas dificultando a formação de biofilmes em superfícies de poliestireno (OTTO, 2018).

Diferentemente do que ocorre com as bactérias Gram-negativas, a comunicação célula-célula através do *quorum sensing* ocorre de outra forma em bactérias Gram-positivas: a expressão dos genes que regulam o *quorum sensing* diminui conforme o biofilme vai sendo formado durante a infecção, facilitando o desprendimento das bactérias e consequente dispersão dessas a partir de uma redução na expressão de adesinas como

a PIA (ARCIOLA; CAMPOCCIA; MONTANARO, 2018).

c. *Haemophilus influenzae*

Haemophilus influenzae é um patógeno que costuma acometer o trato respiratório superior e inferior humano, associado a doenças como otites do ouvido médio, sinusites e complicações de doenças pulmonares como bronquite crônica e fibrose cística (FC). Compõe os bacilos Gram-negativos pleomórficos (cocobacilos). Esta espécie é dividida entre cepas tipáveis (que reagem com os sorotipos a-f) e não-tipáveis (que não reagem com os mesmos sorotipos) (ROMANELI et al., 2018).

A cepa conhecida como não-tipável (*Haemophilus influenzae* Non-typeable - NTHi) não possui cápsula e é tida como formadora de biofilmes, contribuindo para a persistência bacteriana e patogênese de doenças. Além disso, apresenta-se como componente da microbiota natural da nasofaringe, podendo atuar como patógeno oportunista na otite média recorrente (VERMEE et al., 2019).

Para a formação de um biofilme a adesão é essencial, permitindo que ele se desenvolva e resista à resposta inflamatória do hospedeiro, por exemplo. Nesse aspecto, ao contrário de outras espécies bacterianas, o *H. influenzae* não-tipável possui as proteínas HMW1 e HMW2, a Hia e o *pilus* hemoaglutinante como fatores de aderência (VAN HOECKE et al., 2016).

As proteínas HMW1 e HMW 2, ao serem expressas nas cepas de *H. influenzae*, permitem a colonização mais rápida da nasofaringe. Segundo Krasan e colaboradores (1999) em estudo com isolados de nasofaringe e ouvido médio de crianças, essa bactéria tem a função de promover também a adesão entre diversas células epiteliais humanas, mas aparece em menor proporção que as duas adesinas anteriormente citadas. A aderência ao muco respiratório e a fibronectina deve-se a presença de pili ou fimbria (ROMANELI et al., 2018).

Além dessas adesinas, a proteína externa de membrana P2, que é basicamente uma porina fortemente imunogênica contribui para o desenvolvimento de doenças crônicas. Ela protege o *H. influenzae* da ação de anticorpos, através da interação com a mucina presente no muco, devido ao reconhecimento dos oligossacarídeos ligados ao ácido siálico que compõem essa molécula. Essa proteção não impacta em indivíduos com função mucociliar normal, mas é preocupante em indivíduos com fibrose cística. Nesses casos, os pacientes passam a ter dois fatores que contribuem para o surgimento de infecções: a presença de muco viscoelástico nos pulmões devido a FC, que predispõe à adesão e colonização bacteriana, e as adesinas inerentes ao patógeno, que favorecem a sua ligação a superfície de um epitélio pulmonar doente (VERMEE et al., 2019).

Em estudo de Lopes, Azevedo e Pereira (2015) avaliou-se in vivo a presença de estruturas (agrupamentos celulares envoltos por matriz polimérica) correspondentes a formação de biofilmes de NTHi utilizando amostras de lavado broncoalveolar de pacientes

fibrocísticos jovens, sendo a primeira evidência de que esses biofilmes estariam presentes no pulmão, visto que diversos estudos na literatura mencionavam esses biofilmes na otite do ouvido médio, mas não em doenças pulmonares como a fibrose cística. Das dez amostras analisadas, em duas foram encontradas evidências morfológicas (constituição de microcolônias) que sugeriam a presença de biofilme.

Para comprovar esse resultado, testou-se *in vitro* a capacidade de formação de biofilmes dessas cepas não-tipáveis de *H. influenzae*. Dez isolados clínicos formaram biofilmes em superfícies plásticas. A fim de transpor os resultados para a perspectiva *in vivo*, os isolados cujos biofilmes apresentaram-se robustos foram submetidos a culturas de epitélio das vias aéreas e observou-se a formação de biofilmes na superfície apical das células, comprovado também por microscopia. Como o muco produzido pelas células durante a cultura poderia ser confundido com o biofilme, devido a sua constituição semelhante à matriz polissacarídica desse, os autores utilizaram cepas de *H. influenzae* contendo mutações nos genes que expressam o ácido siálico ligado ao esqueleto polissacarídico que forma a matriz polimérica do biofilme para confirmar os achados com os isolados clínicos.

As cepas contendo a mutação não produziram biofilmes robustos como os produzidos pelas cepas isoladas dos pacientes, com ausência dessa mutação. Esses resultados são relevantes, pois indicam que seria interessante tratar pacientes fibrocísticos ainda assintomáticos, uma vez que o *H. influenzae* acaba por danificar o tecido pulmonar facilitando ainda mais a colonização por patógenos mais agressivos, como a *P. aeruginosa*.

3 | INFECÇÕES POLIMICROBIANAS

Evidências clínicas sugerem que infecções polimicrobianas são mais severas em função da atuação sinérgica dos micro-organismos. Por exemplo, em co-cultura, o *H. influenzae* produtor de β -lactamase aumenta a relação CIM/CBM (Concentração Inibitória Mínima/Concentração Bactericida Mínima) da amoxicilina para o *Streptococcus pneumoniae*. A *P. aeruginosa* em co-cultura com *S. aureus* aumenta a infecção em ratos (WOLCOTT et. al., 2013). Uma característica importante das espécies de *Pseudomonas*, segundo Ochoa e colaboradores (2015), é justamente a sua capacidade de adquirir e trocar material genético com outras espécies causadoras de infecções nosocomiais, como a *Klebsiella pneumoniae* e a *Escherichia coli*.

A presença de biofilmes polimicrobianos pode influenciar positivamente na perpetuação de espécies patogênicas. Na co-cultura de *H. influenzae* com *Moraxella catarrhalis*, que é também um patógeno oportunista das vias aéreas, a presença de *M. catarrhalis* aumentou a resistência das cepas de *H. influenzae* à ampicilina. Quando testada a associação de ampicilina e ácido clavulânico sobre o biofilme polimicrobiano, esse efeito foi anulado, permitindo a constatação de que a produção de β -lactamases por parte da *M. catarrhalis* contribui para a diminuição da susceptibilidade do *H. influenzae* aos

antimicrobianos. O mesmo aconteceu quando o biofilme foi exposto a sulfametoxazol e trimetoprima (DUNNE et al., 2018).

Algumas substâncias são utilizadas pelo biofilme para aumentar a sua resistência. No *Mycobacterium smegmatis*, o biofilme aumenta o sequestro de ferro que induzem a expressão de transportadores, como bomba de efluxo (MOTHIBA et al., 2015).

O biofilme em *C. pseudotuberculosis* forma uma matriz complexa de polissacarídeos e outros agregados que pode aderir em superfícies orgânicas ou inorgânicas, além de manter a bactéria protegida, aumentando a sua resistência contra agentes externos. Para entender melhor essa dinâmica de agregados moleculares, as bactérias intracelulares, como as micobactérias, além de possuir toda a estrutura de um biofilme comum, também podem desenvolver outras estruturas na interface, já que essas bactérias possuem diferentes composição da matriz extracelular do biofilme, principalmente pela presença de níveis elevados de lipídeos (SÀ et al., 2013).

Os mecanismos de resistência utilizados pelo biofilme são aqueles que compõem o seu agregado molecular, a saber, o glicocálice, uma estrutura flexível que regula o crescimento do biofilme usando a eletrostática unindo forças de Van der Waals e ligações de hidrogênio, promovendo a adesão e coesão do biofilme, auxiliando na maturação do biofilme (DUNNE et al., 2018).

Enzimas que degradam substâncias tóxicas como compostas fenólicas e metais pesados também proporciona a defesa do biofilme. Alguns genes estão relacionados a essa resposta, o gene *RpoS*, uma subunidade dos fatores sigmas. Esse mesmo fator pode controlar outros genes que determinam a tolerância ao estresse, enquanto outras regulam o rearranjo fisiológico na bactéria em condições de estresse. Essa resposta pode resultar em aumento da resistência a ação de biocidas (MOTHIBA et al., 2015).

4 | CONCLUSÃO

Entender o dinamismo de como bactérias planctônicas formam o biofilme pode elucidar o seu mecanismo molecular de patogenicidade e resistência. Identificar e inibir os genes responsáveis pela formação de biofilme é uma abordagem inovadora e efetiva para minimizar a resistência de biofilmes bacterianos que provoca várias perdas econômicas, quer seja na saúde humana, animal e na indústria.

As bactérias formadoras de biofilmes como *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis* e *H. influenzae* apresentaram-se como as mais prevalentes e, ao entrarem em contato com o hospedeiro, acabam por contribuir para o desenvolvimento de uma infecção crônica e de difícil tratamento. Relatos na literatura indicam que, para a erradicação dos biofilmes, são necessárias concentrações cerca de 100 a 1000 vezes superiores do que as utilizadas na farmacoterapia para micro-organismos na forma planctônica, levando a persistência do micro-organismo e até inviabilizando o tratamento das infecções por causadas por eles.

REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, Marwan et al. Biofilm formation and persistence on abiotic surfaces in the context of food and medical environments. **Archives of microbiology**, v. 196, n. 7, p. 453-472, 2014.
- ARCIOLA, Carla Renata; CAMPOCCIA, Davide; MONTANARO, Lucio. Implant infections: adhesion, biofilm formation and immune evasion. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 7, p. 397-409, 2018.
- COSTA, Anderson Luiz Pena; JUNIOR, Antonio Carlos Souza Silva. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.
- BATISTA, Odinéa Maria Amorim et al. Cateter urinário: o tempo de exposição e calibre podem influenciar na formação de biofilme? **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 31, p. 535-541, 2018.
- DOROSHENKO, Natalya et al. Extracellular DNA impedes the transport of vancomycin in *Staphylococcus epidermidis* biofilms preexposed to subinhibitory concentrations of vancomycin. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 58, n. 12, p. 7273-7282, 2014.
- DUNNE, Eileen M. et al. Carriage of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, and *Staphylococcus aureus* in Indonesian children: a cross-sectional study. **PLoS One**, v. 13, n. 4, p. e0195098, 2018.
- FLEMMING, Hans-Curt et al. Biofilms: an emergent form of bacterial life. **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, n. 9, p. 563-575, 2016.
- LOPES, Susana P.; AZEVEDO, Nuno F.; PEREIRA, Maria O. Microbiome in cystic fibrosis: shaping polymicrobial interactions for advances in antibiotic therapy. **Critical reviews in microbiology**, v. 41, n. 3, p. 353-365, 2015.
- MUHAMMAD, Musa Hassan et al. Beyond risk: bacterial biofilms and their regulating approaches. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 928, 2020.
- MOTHIBA, Maborwa T. et al. Effects of clofazimine on planktonic and biofilm growth of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium smegmatis*. **Journal of global antimicrobial resistance**, v. 3, n. 1, p. 13-18, 2015.
- NASCIMENTO, Igor Ribeiro et al. Biofilmes bacterianos: colonização e identificação de micro-organismos causadores de infecção em cateter venoso central. **Programa de Iniciação Científica-PIC/ UniCEUB-Relatórios de Pesquisa**, v. 2, n. 1, 2016.
- OCHOA, S. A. et al. Phenotypic characterization of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from pediatric patients associated to biofilm formation. **Microbiological Research**, v. 172, p. 68-78, 2015.
- OMAR, Amin et al. Microbial biofilms and chronic wounds. **Microorganisms**, v. 5, n. 1, p. 9, 2017.
- OTTO, Michael. Staphylococcal biofilms. **Microbiology spectrum**, v. 6, n. 4, p. 6.4. 27, 2018.

PERCIVAL, Steven L. et al. Healthcare-associated infections, medical devices and biofilms: risk, tolerance and control. **Journal of medical microbiology**, v. 64, n. 4, p. 323-334, 2015.

ROHDE, H. et al. Polysaccharide intercellular adhesin or protein factors in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* isolated from prosthetic hip and knee joint infections. **Biomaterials**, v. 28, p. 1711–1720, 2007.

ROMANELI, Mariana Tresoldi das Neves et al. Doença invasiva causada por haemophilus influenzae não tipo b: relato de oito casos. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 37, p. 156-160, 2019.

SÁ, Maria da CA et al. Atividade de desinfetantes e produção de biofilme em *Corynebacterium pseudotuberculosis*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 11, p. 1319-1324, 2013.

SARHEED, Omar et al. Antimicrobial dressings for improving wound healing. **Wound Healing-New Insights into Ancient Challenges**; Alexandrescu, V., Ed, p. 373-398, 2016.

SIMIONI, Patricia Ucelli et al. Prevalência de micro-organismos em infecções e casos de sepsis associadas ao cateter: uma revisão de literatura. **Ciência & Inovação**, v. 4, n. 1, 2019.

SILVA, Amanda Sales et al. Quórum sensing e suas implicações na formação de biofilme bacteriano em hospitais. **Journal of Infection Control**, v. 9, n. 1, p. 37-42, 2020.

SCHILCHER, Katrin; HORSWILL, Alexander R. Staphylococcal biofilm development: structure, regulation, and treatment strategies. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 84, n. 3, p. e00026-19, 2020.

SHARMA, G. et al. Pseudomonas aeruginosa biofilm: potential therapeutic targets. **Biologicals: journal of the International Association of Biological Standardization**, v. 42, p. 1–7, 2014.

TASNEEM, U. et al. Biofilm producing bacteria: A serious threat to public health in developing countries. **J Food Sci Nutr**. 2018; 1 (2): 25-31. **J Food Sci Nutr 2018 Volume 1 Issue**, v. 2, 2018.

TRENTIN, D. da S.; GIORDANI, R. B.; MACEDO, A. J. Biofilmes bacterianos patogênicos: aspectos gerais, importância clínica e estratégias de combate. **Rev. Lib**, v. 14, n. 22, p. 113-238, 2013.

VAN HOECKE, Helen et al. Haemophilus influenzae biofilm formation in chronic otitis media with effusion. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**, v. 273, n. 11, p. 3553-3560, 2016.

VERMEE, Quentin et al. Biofilm production by Haemophilus influenzae and Streptococcus pneumoniae isolated from the nasopharynx of children with acute otitis media. **BMC infectious diseases**, v. 19, n. 1, p. 1-10, 2019.

WALKER, Woolf T. et al. Primary ciliary dyskinesia ciliated airway cells show increased susceptibility to Haemophilus influenzae biofilm formation. **European Respiratory Journal**, v. 50, n. 3, 2017.

WOLCOTT, R. et al. The polymicrobial nature of biofilm infection. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 19, n. 2, p. 107–112, 2013.
20.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DE POÇOS RESIDENCIAIS NO ENTORNO DO CEMITÉRIO SANTO ANTÔNIO, NA CIDADE DE PORTO VELHO-RO/BRASIL

Data de aceite: 01/09/2021

Data de submissão: 18/06/2021

Deizieny Aires da Silva Almeida

Bióloga

Porto Velho – Rondônia

<http://lattes.cnpq.br/8548459658273709>

Iasmin Pinheiro de Sousa

Bióloga

Porto Velho – Rondônia

<http://lattes.cnpq.br/8331988456391244>

Taciára Letícia Oliveira Mendes

Agrônoma

Porto Velho – Rondônia

<http://lattes.cnpq.br/0470801546385003>

Helen Queite Guterres Barros Gazola

Mestre em Biologia Experimental pela

Universidade Federal de Rondônia

Porto Velho – Rondônia

<http://lattes.cnpq.br/0569023083263764>

Adriele Maiara Carneiro Muniz

Responsável técnica do laboratório de análises de água – SEDAM

Porto Velho – Rondônia

<http://lattes.cnpq.br/4246849938611517>

RESUMO: O presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica da água de poços residenciais, consumida pelos moradores no entorno do cemitério Santo Antônio, na cidade de Porto Velho – RO. Foram coletadas 100ml de água de 8 casas, com intervalo de um

mês no período de março a setembro de 2017. Sendo realizadas análises microbiológicas no laboratório de análise de água da SEDAM. Os resultados mostraram que houve contaminações por coliformes totais e termotolerantes em todas as amostras, acredita-se que a falta de higienização periódica dos poços por parte dos consumidores e a falta de tratamento correto para tornar a água potável pode ter influenciado nos resultados presentes. Todos os resultados foram baseados na Resolução CONAMA n° 396 de 2008.

PALAVRAS-CHAVE: Água. Microbiologia. Contaminação. Coliformes.

EVALUATION OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF WATER FROM RESIDENTIAL WELLS IN THE SURROUNDINGS OF SANTO ANT CENIO CEMETERY, IN THE CITY OF PORTO VELHO-RO/BRAZIL

ABSTRACT: This study aimed to evaluate the microbiological quality of water from residential wells, consumed by residents around the Santo Antônio cemetery, in the city of Porto Velho - RO. 100ml of water were collected from 8 houses, with an interval of one month from March to September 2017. Microbiological analyzes were carried out in the water analysis laboratory of SEDAM. The results showed that there were contaminations by total and thermotolerant coliforms in all samples, it is believed that the lack of periodical sanitation of the wells by consumers and the lack of correct treatment to make the water drinkable may have influenced the present results. All results were based on CONAMA Resolution No. 396 of 2008.

KEYWORDS: Water. Microbiology. Contamination. Coliforms.

INTRODUÇÃO

Sabe-se que a água é um recurso natural, indispensável para a vida humana, pois o ser humano possui 75% de seu organismo composto por água. As águas recobrem cerca de 80% da superfície terrestre estão concentradas principalmente em oceanos e mares. Apenas uma quantidade inferior a 2,5% é encontrada nos continentes, em rios, lagos e no subsolo ou em geleiras (MARTINS, BIGOTTO, VITIELLO, 2010).

Com o crescimento urbano desordenado, as águas contaminadas são objetos de preocupação e de estudos. Esse crescimento tem gerado concentração de poluentes mal gerenciados criando um ambiente propício à poluição das reservas hídricas subterrâneas (CAMPOS et al, 2011).

Segundo a ONU, atualmente, estima-se que 2,1 bilhões de pessoas no mundo vivam sem água própria para o consumo humano. Organização alerta que degradação ambiental, crescimento populacional e mudanças climáticas poderão agravar desafios de oferta e disponibilidade dos recursos hídricos (ONU, 2019).

Trinta e cinco milhões de brasileiros não são abastecidos com água potável e quase metade da população (48%) não têm coleta de esgotos. (Instituto Brasil, 2018)

Em Porto Velho, segundo Pereira et al. (2009) o controle de qualidade de água destinada ao consumo humano, desde os sistemas produtores (mananciais, captação, tratamento) aos sistemas de distribuição (reservatório, redes), é realizado pelo Laboratório Central de Controle e Qualidade da Companhia de Águas e Esgotos de Rondônia (CAERD). Este monitoramento é regulamentado pela Portaria n. 2.914/MS de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde que determina padrão de qualidade da água.

Segundo Castro et al. (2017), as doenças como diarreia infecciosa, cólera, hepatite A, esquistossomose, entre outras são causadas principalmente pela ausência de saneamento básico.

O presente estudo tem como objetivo analisar a água de poços residenciais, com foco na avaliação da qualidade microbiológica da água consumida pelos moradores *in loco* no entorno do cemitério Santo Antônio, na cidade de Porto Velho – RO.

MATERIAL E MÉTODO

Foram analisadas água do poço de 8 casas, no entorno do cemitério Santo Antônio, em Porto Velho – RO, nos meses de março, maio, julho e setembro. Totalizando 4 amostras por casa. Considerando a dificuldade de acesso direto aos poços, as amostras foram coletadas com auxílio da mangueira acoplada a bomba d'água do poço.

Conforme o Manual de orientação de coleta de água e amostras ambientais do

LACEN (2018), fez-se a higienização da mangueira da bomba antes da coleta, utilizando álcool 70°, deixando escoar a água em vazão alta por cerca de 2 a 3 minutos, que tem por objetivo eliminar os possíveis resíduos retidos na mangueira. Coletou-se 100ml de água em recipiente estéril. As amostras foram armazenadas imediatamente em isopor sobre refrigeração e levada ao laboratório da SEDAM.

As amostras passaram por análise microbiológica no laboratório de análise de água, utilizando a técnica de membrana filtrante (MF) 24 hs, meio – Chomocult Coliform Agar, aplicando-se como parâmetro a resolução CONAMA 396 de 03/04/2008 que estabelece diretrizes para águas subterrâneas de consumo humano.

RESULTADOS

Os resultados microbiológicos das coletas realizadas nos meses de março, maio, julho e setembro foram positivas, indicando a presença de coliformes totais e termotolerantes em todos os laudos (tabela 1).

Casas	Coliformes Totais/100mL	Coliformes Termotolerantes/100mL
1	Positivo	positivo
2	Positivo	positivo
3	Positivo	positivo
4	Positivo	positivo
5	Positivo	positivo
6	Positivo	positivo
7	Positivo	positivo
8	Positivo	positivo

Tabela 1 - Resultados microbiológicos da coleta realizada em março, maio, julho e setembro.

No segundo mês de análise (maio), o menor quantitativo de coletas se deu devido à ausência dos moradores em suas residências, impossibilitando assim a realização da coleta.

DISCUSSÃO

Corroborando com Saraiva (2015) e Castro (2017), a média do PH da água (4,64) também se encontra fora do recomendado pela Portaria nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011, onde recomenda-se que o valor de pH seja mantido entre 6,0 e 9,5. O padrão microbiológico de potabilidade da água para consumo humano analisado em 100 ml deve

ser 0 para coliformes totais e termotolerantes.

Segundo Almeida (2017), as análises bacteriológicas fornecem indicadores consistentes de contaminação de origem humana ou animal, porém, os resultados obtidos nos quatro poços amostrais demonstraram ausência para os parâmetros Coliformes totais e *Escherichia Coli*. As análises bacteriológicas não indicam influência do cemitério.

Conforme o trabalho de Sales e Lacerda (2017), foram observadas contaminações bacteriológicas nas amostras, sendo a contaminação mais elevada na região periférica da cidade e a de menor índice nas proximidades do cemitério. Nas coletas realizadas nas proximidades do cemitério Santo Antônio, também houve a presença de coliformes, porém a contaminação sugere a interferência de diversos fatores.

Medidas que podem ser tomadas é adotar uma delimitação da área ao redor do poço, ou seja, estabelecer uma distância entre as moradias, com o fim de minimizar uma possível contaminação microbiológica e propagação de doenças de transmissão hídrica. (CASTRO et al., 2017)

CONCLUSÃO

Após análise da água durante o período de pesquisa, foram emitidos pelo laboratório de análise de águas da SEDAM os laudos com os resultados para os moradores, junto com os laudos foram entregues folheto demonstrativo com as formas de tratamento da água para consumo e os riscos que os agentes patogênicos (coliformes) geram, bem como vidros de hipoclorito a 2,5%.

A contaminação da água desencadeia doenças como hepatite, cólera, esquistossomose entre outras, o que sugere que a fonte poluidora não se restringe apenas ao potencial produzido pelo cemitério, mas também a ausência de saneamento básico no local, bem como a proximidade da fossa ao poço.

Tendo a água como pilar fundamental para a conservação dos seres vivos, visto que a sociedade vem enfrentando uma extensa crise na distribuição de água potável, acarretado principalmente pelo crescimento populacional, é necessária conscientização ambiental por parte da população em geral, para que não chegue à escassez ou extinção dessa preciosidade essencial para a vida.

AGRADECIMENTOS

Centro Universitário São Lucas e Secretaria de Estado do Desenvolvimento Ambiental – SEDAM.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, Jéssica Nunes de; RAMOS, Matheus Lisboa; VIROLI, Sérgio Luis Melo. Avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicas das águas subterrâneas entorno do cemitério Bom Jesus no município Paraíso do Tocantins. In: **8ª Jornada de iniciação científica e extensão do Instituto Federal do Tocantins**. 2017.
- BUZANELLO, Elizandra Bruschi; MARTINHAGO, Makelly Wickert; ALMEIDA, Milene Miranda; PINTO, Fabiana Gisele da Silva. Determinação de Coliformes Totais e Termotolerantes na Água do Lago Municipal de Cascavel, Paraná. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 6, supl. 1, p. 59-60, set. 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. Portaria MS nº. 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Brasília, 2005. Disponível em: <http://bvsm.saude.gov.br/bvs/publicacoes/portaria_518_2004.pdf> Acesso em: 28/05/2015.
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução no 396, de 03 de abril de 2008. Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas e dá outras providências. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=562>> Acesso em: 27/05/2015.
- CABRAL, João Victor Rodrigues; SANTOS, Gabriebla Diedsitsch Dos; MAZZA, Felipe Cury; SANTOS, Vera Lucia Pereira dos. Investigação de passivos ambientais em poços de água próximos a um cemitério situado na cidade de Curitiba-PR. Disponível em: <<http://portaldeperiodicos.unibrazil.com.br/index.php/anaisvinci/article/view/864/840>> Acesso em: 28/05/2015.
- CASTRO, Martrick Senna Cruz de; SOEIRO, Emmanuelle Tostes; SOUSA, Leonardo Fernandes de Lima; GAIA, Luciana Abud Miranda Ayan; FERREIRA, Raphael de Abreu. Análise das águas subterrâneas em torno do cemitério parque das palmeiras no município de Marituba no ano de 2017. In: **VIII Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental Campo Grande/MS – 27 a 30/11/2017**.
- COSTA, Mayame Martins; AMORIM, Irenice Aleixo; EDUARDO, Laura Maria; LAUTHARTTE, Leidiane Caroline; BASTOS, Wanderley Rodrigues. Diagnóstico da qualidade de água no entorno de cemitério em Jaci-Paraná (RO), amazônia ocidental. **III Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental Goiânia/GO - 19 a 22/11/2012**.
- DOS SANTOS, Aline Gomes da Silva; MORAES, Luiz Roberto Santos; NASCIMENTO, Sérgio Augusto de Moraes. Qualidade da água subterrânea e necrochorume no entorno do cemitério do campo santo em Salvador-BA. **Revista Eletrônica de Gestão e Tecnologias Ambientais (GESTA)**, v. 3, n. 1, p. 39-60, 2015.
- DOS SANTOS, Raimundo Nonato do Espírito Santo; LEAL, Vanessa Mendonça Camargo. Avaliação físico-química e microbiológica das águas subterrâneas no entorno do cemitério do bairro do Aeroporto, núcleo Cidade Nova. **Revista águas subterrâneas**. 2011.
- LACEN – Laboratório Central de Saúde Pública. Manual de Orientação para Coleta de Água e Amostras ambientais. Disponível em: <<http://lacen.saude.sc.gov.br/arquivos/MOCAAA.pdf>> Acesso em: 26/12/2017.

MARTINS, D.; BIGOTTO, F.; VITIELLO, M. **Geografia: Sociedade e cotidiano**. São Paulo: Editora Escala educacional. 1ª edição, Volume 1, 2010.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS: Em dia mundial, ONU pede acesso universal a serviços de água e saneamento. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/em-dia-mundial-onu-pede-acesso-universal-a-servicos-de-agua-e-saneamento/>> Acesso em: 23/03/2019.

OECO: Trinta e cinco milhões de brasileiros não têm acesso a água potável. Disponível em <<https://www.oeco.org.br/blogs/salada-verde/trinta-e-cinco-milhoes-de-brasileiros-nao-tem-acesso-a-agua-potavel/>> Acesso em 23/07/2019.

PEREIRA, Marcio; SILVA, Ana; GASTAO, Tais; CARVALHO, Tatiane; IMADA, Katiúscia; ARANHA, Luiz Camargo. Estudo da Potabilidade de Água para Consumo no Bairro Triângulo e Vila Candelária, Porto Velho – Rondônia – Brasil. **Revista Saber Científico**. Porto Velho, v.2, n.1, p. 28-36, jan./jun.,2009.

SARAIVA, Ives San Diego; LIMA, Aurizete; CASTRO, Shelley; LIMA, Marinete; Gomes Maura; COSTA, Verônica. Análise físico-química da água do lençol freático do cemitério nossa senhora Aparecida, Manaus, AM. **Anais do I Congresso de Ciência, Educação e Pesquisa Tecnológica**. v.1, p. 103-106, 2015.

SALES, Maria Edina Soares; LACERDA, Maria Conceição. Análise de coliformes totais e termotolerantes em água de poço de residências no município de Presidente Médici, Rondônia. **Rev. Saberes UNIJIPA, Ji-Paraná**, Vol. 6 nº 1 Jul/Dez 2017.

SOUSA, Natália Cristina Figueira; GAZOLA, Helen Queite Guterres Barros; ALVES, Ester Rosalina da Silva; SILVA, Olivia Bezerra. Análise físico-química e bacteriológica de coliformes totais e termotolerantes da água de consumo distribuída aos alunos de 3 creches privadas do setor leste da cidade de Porto Velho – Rondônia. **Revista Saber Científico**, Porto Velho, v. 5, n. 1, p. 24–32, 2016.

XAVIER, Natiele Silva.; OLIVEIRA, Acir Braido.; SILVA, Ederly Santos.; PINHEIRO, Sérgio Alves.; Alves, Everson Ribeiro. Análise de impacto ambiental pelas potencialidades de contaminação por necrochorume em um cemitério na cidade de Ariquemes-RO. In: **V Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**. Belo Horizonte/MG – 24 a 27/11/2014.

CAPÍTULO 3

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA FARINHA DE MANDIOCA (*Manihot esculenta*, Crantz) DO TIPO UARINI, COMERCIALIZADA NA FEIRA DA MANAUS MODERNA NA CIDADE DE MANAUS-AM

Data de aceite: 01/09/2021

Data de submissão 04/06/2021

Hualef Sérgio da Silva Pereira

Acadêmico do Centro Universitário do Norte-UNINORTE, Curso de Biomedicina Manaus-Amazonas

Raynara Inácio de Araújo

Acadêmico do Centro Universitário do Norte-UNINORTE, Curso de Biomedicina Manaus-Amazonas
<http://lattes.cnpq.br/2797345648411416>

Williene Coelho da Silva

Acadêmico do Centro Universitário do Norte-UNINORTE, Curso de Biomedicina Manaus-Amazonas
<http://lattes.cnpq.br/0026211449079832>

Uziel Ferreira Suwa

Biomédico, Mestre em Saúde Pública. Fundação Oswaldo Cruz-FIOCRUZ. Instituto Leônidas e Maria Deane Manaus-Amazonas
<http://lattes.cnpq.br/0866157503928121>

RESUMO: Na região Norte, dentre os alimentos comercializados em feiras livres, destaca-se a farinha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), um alimento rico em carboidratos e fibras, que faz parte do cardápio dos nortistas e até mesmo de outras regiões do Brasil. A avaliação da qualidade microbiológica de um produto fornece dados que permitem avaliá-lo quanto às condições de

processamento, armazenamento e distribuição para o consumo, sua vida útil e o risco à saúde. Desta forma este estudo teve por objetivo realizar análise microbiológica em amostras de farinha de mandioca comercializadas à granel na feira da Manaus Moderna. As amostras foram obtidas em 3 dias distintos e alternados, em condições de consumidor, 3 amostras de farinha de mandioca de diferentes feirantes, totalizando 9 amostras de, no mínimo, 100 gramas, sendo preparadas e analisadas de acordo com as técnicas bacteriológicas específicas para isolamento e identificação dos microrganismos. De acordo com a Resolução RDC nº 12 de 02.01.2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 100% das amostras de farinhas de mandioca comercializadas à granel na feira neste estudo, se apresentam dentro dos padrões aceitáveis de contaminantes microbiológicos analisados. O que configura segurança alimentar aos consumidores.

PALAVRAS-CHAVE: Microbiologia de alimentos; farinha de mandioca; segurança alimentar.

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF CASSAVA FLOUR (*Manihot esculenta*, Crantz) OF THE UARINI TYPE, SOLD AT THE MODERN MANAUS FAIR IN THE CITY OF MANAUS-AM

ABSTRACT: In the North region, among the foods sold at street markets, cassava flour (*Manihot esculenta* Crantz) stands out, a food rich in carbohydrates and fibers, which is part of the menu of northerners and even from other regions of Brazil. The assessment of the microbiological quality of a product provides data to assess the

conditions for processing, storage and distribution for consumption, its useful life and health risk. In this way, the objective of this study was to carry out a microbiological analysis on samples of cassava meal commercialized in bulk at the Manaus Moderna fair. As samples, 3 samples of cassava meal from different fairs were obtained in 3 distinct days and alternated, in consumer conditions, totaling 9 samples of at least 100 grams, being prepared and analyzed according to specific bacteriological techniques for isolation Identification of microorganisms. According to Resolution RDC No. 12 of January 2, 2001 of the National Agency for Sanitary Surveillance, 100% of the samples of cassava flour sold in bulk at the fair under study were within acceptable microbiological contaminant standards. What constitutes food safety for consumers.

KEYWORDS: Food Microbiology; cassava flour; Food security.

1 | INTRODUÇÃO

Na região Norte, dentre os alimentos comercializados em feiras livres, destaca-se a farinha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), um alimento rico em carboidratos e fibras, que faz parte do cardápio dos nortistas e até mesmo de outras regiões do Brasil, sendo considerado um dos principais produtos da agricultura familiar e um elemento que compõem a identidade da cultura brasileira por estar associado à alimentação de índios e negros escravizados durante a colonização do Brasil (ALMEIDA; SANTOS, 2011; SOUZA *et al.*, 2021).

Possuindo um dos papéis importantes dentro dos aspectos econômicos no cenário nacional, a produção da farinha de mandioca representa uma atividade de importância social para as populações rurais que participam da mesma (CHISTÉ *et al.*, 2010). Segundo dados da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação–FAO no ano de 2017 o Brasil era o quarto maior produtor de mandioca do mundo com 24 milhões de toneladas (FAO, 2018). E de acordo com o Levantamento Sistemático da Produção Agrícola, a estimativa de produção brasileira de raiz de mandioca para o ano de 2021, de acordo com a última atualização do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE realizada em fevereiro de 2020, é de 18,81 milhões de toneladas, colhidas em uma área de 1,23 milhão de hectares (IBGE, 2021).

Conforme a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF, 2017-2018), a aquisição alimentar domiciliar per capita anual da farinha de mandioca no Brasil é igual a 23,54kg na região norte, 9,67kg na região Nordeste, 1,17kg no Sudeste, 1,29kg no Centro-Oeste e 0,81kg no Sul (IBGE, 2021). Esses dados demonstram que a população do Norte do Brasil faz um alto consumo de farinha de mandioca.

Na cidade de Manaus-AM, no Norte do Brasil, a farinha de mandioca comercializada nas feiras livres e Mercados é oriunda de municípios vizinhos que fazem sua produção artesanal em pequenos estabelecimentos denominados de “Casas de Farinha” (SENA, 2019). Neste tipo de produção artesanal podem ocorrer contaminações microbiológicas em todas as etapas pelas quais passam os produtos agrícolas, desde a colheita até o

processamento, embalagem, transporte, armazenamento e através de diversos meios: solo, água, ar e contato físico, mecânico ou manual (SOUZA *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2020).

A farinha de mandioca comercializadas em Manaus não é submetida a análises de padrão de controle de contaminações. Estes padrões determinam a qualidade de um alimento, sendo o mais importante os que definem as suas características microbiológicas. A avaliação da qualidade microbiológica de um produto fornece informações que permitem avaliá-lo quanto às condições de processamento, armazenamento e distribuição para o consumo, sua vida útil e o risco à saúde (TORRES; FURTADO, 2015).

Desta forma, este estudo teve por objetivo realizar uma análise microbiológica em amostras de farinha de mandioca do tipo Uarini, comercializadas na feira da Manaus Moderna na cidade de Manaus-Am.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Coleta das amostras e local de análise

Foram obtidas em 3 dias distintos e alternados, em condições de consumidor, 3 amostras de farinha de mandioca do tipo Uarini de diferentes feirantes, totalizando 9 amostras. As amostras comercializadas à granel na feira da Manaus Moderna, eram oriundas de produtores de farinha de cidades do interior do Estado do Amazonas. O material coletado foi acondicionado em sacos plásticos estéreis e encaminhado ao Laboratório Multiusuário do Instituto Leônidas e Maria Deane – ILMDF/IOCRUZ, para posterior análise, sendo os resultados comparados com as diretrizes gerais da Resolução – RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001).

2.2 Preparo das amostras

No laboratório, foi pesado assepticamente, 25g do alimento e homogeneizado com 225mL peptona tamponada estéril 0,1% e incubada a 35-37°C. Após isso, fez-se a diluição seriada decimal até 10^{-3} para realização das demais análises.

Para as demais análises microbiológicas foram utilizados os métodos de preparação dos meios de cultura, de acordo com as orientações do Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos (SILVA *et al.*, 2010). As análises consistem na avaliação da presença de coliformes termotolerantes, *Samonella/Shigella* spp, bactérias heterotróficas e contagem de bolores e leveduras.

Para garantir segurança e confiabilidade dos resultados, todas as amostras foram analisadas em triplicata, tirando-se a média quando positivas.

2.3 Coliformes Termotolerantes

Utilizou-se a técnica de tubos múltiplos, com três séries de três tubos em cada diluição (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}). Utilizou-se como meio presuntivo o caldo Lauril Sulfato Triptose, com incubação a 35°C durante 48 horas. A contagem de coliformes termotolerantes foi feita em Caldo *Escherichia coli* (EC, MERCK®) com incubação a 45,5°C por 24 horas. Foi utilizada a tabela NMP para calcular o “Número Mais Provável” de coliformes fecais por grama de alimento.

2.4 *Salmonella/Shigella* spp.

Para determinação de *Salmonella/Shigella* spp foi inoculado 0,1mL da diluição em meio Ágar *Salmonella Shigella* (SS), utilizando como técnica de *Spread Plate*, o método de plaqueamento em superfície. A incubação foi realizada na temperatura de 36°C por 24h, e, após isso, avaliou-se a presença e ausência das bactérias no meio cultura.

2.5 Bactérias Heterotróficas

Para determinação de Bactérias Heterotróficas foi inoculado 0,1mL da diluição em meio Ágar Pseudo Aéreo, utilizando como técnica de *Spread Plate*. Posteriormente, foi realizada a incubação a 36°C/24h, avaliando-se a presença e ausência das bactérias no meio de cultura.

2.6 Contagem de Bolores e Levedura

Para contagem de bolores e leveduras foi inoculado 0,1mL da diluição, em meio Agar Batata (BDA), utilizando como técnica de *Spread Plate* o método de plaqueamento em superfície. Em seguida, foi realizada a incubação a 28°C por 5 dias. As colônias de bolores e leveduras foram contadas em contador de colônias e os resultados foram expressos pelo número de Unidades Formadoras de Colônia por grama de amostra (UFC/g).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises realizadas neste estudo, no intuito de avaliar a qualidade microbiológica de farinha de mandioca do tipo Uarini, comercializadas à granel na feira da Manaus Moderna na cidade de Manaus - Am, encontram-se descritas na **Tabela 1**.

Amostras	Parâmetros avaliados			
	Coliformes a 45°C/g <i>E. coli</i> NMP/g ⁻¹	<i>Salmonella/ Shigella</i> spp. 25g UFC/g ⁻¹	Bactérias Heterotróficas UFC/g ⁻¹	Bolores e Leveduras UFC/g ⁻¹
F1/1° dia	1,8 10 ⁻¹	Ausência	Ausência	Ausência
F2/1° dia	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
F3/1° dia	0,5 10 ⁻¹	Ausência	Ausência	Ausência
F4/2° dia	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

F5/2° dia	2,1x 10 ⁻¹	Ausência	Ausência	Ausência
F6/2° dia	2,4 x 10 ⁻¹	Ausência	Ausência	Ausência
F7/3° dia	1,6x10 ⁻¹	Ausência	Ausência	Ausência
F8/3° dia	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
F9/3° dia	1,4x10 ⁻¹	Ausência	Ausência	Ausência
Padrão RDC n° 12	<3,0NMP/g⁻¹	AUSENTE	AUSENTE	SEM PADRÃO

Tabela 1. Resultados de análises microbiológicas de farinha de mandioca do tipo Uarini, comercializada na feira da Manaus Moderna na cidade de Manaus- AM.

De acordo com os resultados obtidos para análises de coliformes fecais e totais, as amostras F1, F3, F5, F6, F7 e F9 apresentaram-se positivas. Este resultado obtido, não significa contaminação direta com material fecal. Por mais que estes valores sejam positivos, os mesmos estão dentro do padrão exigido pela Resolução RDC n°12 de 02.01.2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2010), que é de 10³NMP/g⁻¹ para a farinha de mandioca. No entanto, estes valores significam uma manipulação inadequada na higiene, transporte e acondicionamento inadequados. É interessante ressaltar que os compradores de farinha normalmente usam as mãos para provar o grau de torrefação do produto, desprezando o restante no saco de farinha (LIMA *et al.*, 2010).

Lima *et al.* (2010) em trabalho realizado na Paraíba, analisaram a microbiologia de farinha de mandioca e não encontram coliformes com valor acima do padrão tolerado pela RDC, o mesmo resultado foi obtido no estudo de Torres e Furtado (2015) analisando a qualidade da farinha de mandioca no estado do Acre. Souza *et al.* (2015) também encontraram resultados semelhantes em estudo da farinha de mandioca comercializada na região sudoeste da Bahia. Ferreira Neto *et al.* (2004) avaliaram as condições microbiológicas de farinha de mandioca armazenadas durante um período de 180 dias e os resultados para coliformes resultaram todos em NMP g⁻¹ igual a zero. Dósea *et al.* (2010) também evidenciaram ausência de coliformes termotolerantes caracterizando a microbiologia da farinha e farinha e fécula de mandioca em unidades tradicionais e modelo.

De acordo com Tasca *et al.* (2014) coliformes termotolerantes tem a mesma definição que coliformes totais, restringindo-se os organismos capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 horas a 44,5 - 45,5°C. O grupo de coliformes totais inclui quatro gêneros, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, dos quais os três últimos não são de origem fecal obrigatória. *E. coli* é a bactéria indicadora mais representativa de contaminação fecal, também presume contaminação causada por roedores durante a estocagem dos alimentos (SILVA; CARVALHO; VALE, 2012).

Em relação à presença ou ausência das bactérias *Salmonella* spp. e *Shigella* spp., os resultados obtidos neste estudo foram todos ausentes, sendo compatível com RDC que tem como padrão a ausência dessas bactérias na análise da farinha de mandioca.

Estudo realizado por Santos *et al.* (2014) e Souza *et al.* (2020) evidenciaram ausência de *Salmonella* spp. em farinhas de mandioca comercializada em feira livre. As *Salmonella* spp são amplamente distribuídas na natureza, sendo o trato intestinal do homem e de animais o principal reservatório natural. Os animais domésticos, cães e gatos, principalmente, podem ser portadores de *Salmonella*, representando grande risco de contaminação da farinha de mandioca desde a produção até a sua comercialização (GHELARDI *et al.*, 2002).

Os resultados obtidos para bactérias heterotróficas também foram ausentes para todas as amostras. Apesar da maioria das bactérias heterotróficas não ser patogênica, pode representar riscos à saúde, como também deteriorar a qualidade do alimento, provocando o aparecimento de odores e sabores desagradáveis (FANELON *et al.*, 2020).

Para bolores e leveduras, os resultados também foram ausentes para todas as amostras, estando de acordo com os padrões da qualidade estabelecidos pela RDC. Apesar das amostras de farinhas de mandioca analisadas por este trabalho estarem sem contaminação fúngica, de acordo com RODRIGUES *et al.*, (2015), a presença desses microrganismos alude um perigo à saúde pública, pois alguns gêneros de fungos filamentosos produzem aflatoxinas que são altamente carcinogênicas mesmo em baixas concentrações.

4 | CONCLUSÃO

As amostras de farinhas de mandioca comercializadas à granel na feira da Manaus Moderna, de acordo com a Resolução RDC nº 12 de 02.01.2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, apresentaram-se dentro dos padrões aceitáveis de contaminantes microbiológicos. Todavia, considera-se ideal não encontrar microrganismos patogênicos e indicadores de contaminação em alimentos consumidos de forma direta pelo consumidor, pois, tais microrganismos podem transmitir doenças ou deteriorar o alimento. Logo, os resultados demonstraram que a farinha de mandioca se apresenta dentro dos padrões aceitáveis de contaminantes microbiológicos, configurando segurança alimentar aos consumidores deste alimento.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M.A.; SANTOS, E.S. Análise comportamental do agronegócio da mandioca (*Manihot esculenta*) no Brasil de 2004 a 2009. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v.5, n.2, p.441-49, 2011.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº52 de 7 de novembro de 2011- Dispõe sobre regulamento técnico da farinha de mandioca. Disponível em: <<http://www.ivegetal.com.br/cvegetal/Legislaçãoclassificaçãovegetal/In52>>. Acesso em 25 de maio de 2021.

BRASIL. Resolução – RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2002. Regulamento técnico sobre padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 02 de janeiro de 2002.

CHISTÉ, R. C.; COHEN, K. O.; MATHIAS, E. A.; RAMOSJÚNIOR, A. G. Quantificação de cianeto total nas etapas de processamento das farinhas de mandioca dos grupos seca e d'água. **Acta Amazônica**, v. 40, n. 1, p. 221-226, 2010.

DÓSEA, R.R; MARCELLINI, P.S.; SANTOS, A.A.; RAMOS, A.L.D.; LIMA, A.S. Qualidade microbiológica na obtenção de farinha e fécula de mandioca em unidades tradicionais e modelo. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.40, n.2, p.441-446, fev, 2010.

FAO. Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação. O enorme potencial da mandioca como cultura do século 21. Disponível em: <<http://www.fao.org/americas/noticias/ver/es/c/230144/>>. Acesso em 25 de maio de 2021.

FENELON, A. C. G. et al. Qualidade microbiológica de carne bovina moída comercializada em supermercados na região central de Uberlândia, MG. **Revista Brasileira de Higiene Sanidade Animal** (v.13, n.4) p. 452 – 460 out – dez (2019).

FERREIRA NETO, C.; NASCIMENTO, E. M.; FIGUEIRÊDO, R. M.; QUEIROZ, A. J. M. Microbiologia de farinhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) durante o armazenamento. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 34, n. 2, mar./abr. 2004.

GHELARDI, E.; CELANDRONI, F.; SALVETTI, S.; BARSOTTI, C.; BAGGIANI, A.; SENESI, S. Identification and characterization of toxigenic *Bacillus cereus* isolates responsible for two food-poisoning outbreaks. **FEMS Microbiology Letters**, v. 208, n. 1, p. 129-134, 2002.

IBGE. Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola - abril 2021. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>>. Acesso em 20 de maio de 2021.

IBGE. Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamento familiar. Disponível em: <<http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv45419.pdf>>. Acesso em 20 de maio de 2021.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola e fascículo de Indicadores de 2016. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Fasciculo_Indicadores_IBGE/estProdAgr_201601.pdf>. Acesso em 25 de maio de 2021.

LIMA, C.P.S.; SERRANO, N.F.G.; LIMA, A.W.O.; SOUZA, C.P. Presença de Microrganismos Indicadores de Qualidade em Farinha e Goma de Mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz). **Revista APS**, v.10, n.1, p. 14-19, jan./jun. 2007.

RODRIGUES, E. *et al.*. Avaliação da presença de bolores e leveduras em farinha de mandioca (*Manihot Esculenta* Cratz) comercializadas a granel em feiras livres do município de Ji-Paraná-RO. **South American Journal Of Basic Education, Technical And Technological**. v. 2, n. 2 P. 15-22 (2015).

SANTOS, J. J. et al. Perfil sanitário da farinha de mandioca comercializada em feira livre. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v.38, n.3, p.693-707 jul./set. 2014.

SENA, R. R. **Sistema de produção em casas de farinha: uma contribuição ao processo de consolidação da indicação geográfica da farinha Uarini**. 2019, 224 f. Tese (Doutorado em Administração) – Faculdade de Ciências Econômicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019.

SILVA, J.T.S; CARVALHO, J.S.; VALE, V.L.C. Estudo das condições microbiológicas de farinhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) comercializadas no centro de abastecimento de Alagoinhas, Bahia. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 43-52, jan./jun. 2012.

SILVA, J.T.S; CARVALHO, J.S.; VALE, V.L.C. Qualidade microbiológica da farinha de mandioca comercializada na região sudoeste da Bahia. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 43-52, jan./jun. 2012.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N.; TANIWAKI, M. H. SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4 ed. São Paulo: Varela, 2010.

SOUZA, C. F. S. Avaliação microscópica e microbiológica de farinhas de mandioca, manihot esculentacrantz, comercializadas nas feiras do produtor e do agricultor na cidade de Macapá, Amapá. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 16, n. 2, p. 122-136, 2020.

SOUZA, C. P. et al. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. **Revista Atenção Primária a Saúde**, Juiz de Fora, v. 9, n.1, p.83-88, 2006.

SOUZA, J.R.; FIGUEIREDO, R.M.; SANTANA, C.M.P. Qualidade microbiológica da farinha de mandioca comercializada na região sudoeste da Bahia. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.17, n.2, p.117-123, 2015.

SOUZA, N. F. C. et al. Qualidade das farinhas de mandioca comercializadas em feiras livres na Cidade de Codó estado do Maranhão, Brasil. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, e51810212816, 2021.

TASCA, C.M. et al. Análise microbiológica da farinha de trigo (*Triticum Aestivum*) comercializada no município de Cascavel – PR. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, 21(2):499-504, 2014.

TORRES, S.S.; FURTADO, M.T. Qualidade da farinha de mandioca comercializada no município de Rio Branco – Acre. In: **5º Simpósio de Segurança Alimentar, Anais**, Bento Gonçalves, 2015.

CAPÍTULO 4

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DE *Sporothrix brasiliensis*: AGENTE DE ESPOROTRICOSE DE TRANSMISSÃO ZONÓTICA

Data de aceite: 01/09/2021

Data de submissão: 03/06/2021

Fernanda de Andrade Galliano Daros Bastos

Universidade Federal do Paraná
Curitiba – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/5720377617912067>

Renata Botti Okar

Faculdades Pequeno Príncipe
Curitiba – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/7477567033478956>

Louise Tamirys Camargo

Faculdades Pequeno Príncipe
Curitiba – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/2425408884718384>

Regielly Caroline Raimundo Cognialli

Complexo Hospital de Clínicas da Universidade
Federal do Paraná
Curitiba – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/3504797067064893>

Flavio de Queiroz-Telles

Universidade Federal do Paraná
Curitiba – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/0111936868262951>

RESUMO: A Esporotricose é a micose de implantação (subcutânea) mais prevalente em todo o mundo. A doença pode ser transmitida por via sapronótica, por plantas e sub produtos vegetais ou de origem zoonótica, podendo ser transmitida por vários tipos de animais, principalmente o gato doméstico, afetando

humanos, felinos e cães. As manifestações clínicas podem ser classificadas como cutâneas e extracutâneas, sendo a forma linfocutânea a mais frequente, caracterizadas pela presença de nódulos subcutâneos, que podem infeccionar e gerar complicações. As espécies do gênero *Sporothrix* são encontradas na natureza, com potenciais patogênicos diferentes e ampla distribuição geográfica. A taxonomia do gênero *Sporothrix* é classificada de acordo com suas características morfológicas, além do perfil molecular. *Sporothrix brasiliensis*, encontrado no Brasil, está relacionado com a transmissão zoonótica, é uma espécie mais virulenta e têm sido descrita causando manifestações atípicas. A espécie emergiu após grandes surtos de Esporotricose de Transmissão Felina (ETF) relatados, principalmente no estado do Rio de Janeiro, e logo em outros estados do Brasil. O agente é transmitido em fase leveduriforme do animal para o humano, por mordidas, arranhões e/ou secreções de lesões em felinos infectados. A transmissão zoonótica vem recebendo destaque, tendo os felinos domésticos um importante papel epidemiológico na doença. A fácil transmissão entre os felinos, e então para o humano, é responsável por surtos, que ressalta a importância de estudos sobre a doença. Atualmente, a ETF é considerada uma zoonose emergente e permanente no Brasil. Pode ser diagnosticada a partir da combinação de manifestações clínicas, da epidemiologia e de exames laboratoriais. Para o diagnóstico da doença são utilizadas algumas técnicas, como: microbiológicas, histopatológicas e moleculares.

PALAVRAS-CHAVE: Esporotricose, transmissão

felina, *Sporothrix brasiliensis*.

MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF *Sporothrix brasiliensis*: ZONOTIC TRANSMISSION SPOROTRICHOSIS AGENT

ABSTRACT: Sporotrichosis is the most prevalent implantation (subcutaneous) mycosis worldwide. The disease can be transmitted sapronotically, by plants and plant by-products or of zoonotic origin, and it can be transmitted by various types of animals, especially the domestic cat, affecting humans, felines and dogs. Clinical manifestations can be classified as cutaneous and extracutaneous, the lymphocutaneous form being the most frequent, characterized by the presence of subcutaneous nodules, which can become infected and lead to complications. Species of the genus *Sporothrix* are found in nature, with different pathogenic potentials and wide geographic distribution. The taxonomy of the genus *Sporothrix* is classified according to its morphological characteristics, in addition to its molecular profile. *Sporothrix brasiliensis*, found in Brazil, is related to zoonotic transmission, is a more virulent species and has been described causing atypical manifestations. The species emerged after large outbreaks of Feline Transmission Sporotrichosis (ETF) reported mainly in the state of Rio de Janeiro, and soon in other states in Brazil. The agent is transmitted in the yeast phase from animal to human, through bites, scratches and/or secretions from lesions in infected felines. Zoonotic transmission has been highlighted, with domestic felines playing an important epidemiological role in the disease. The easy transmission between felines, and then to humans, is responsible for outbreaks, which highlights the importance of studies on the disease. Currently, ETF is considered an emerging and permanent zoonosis in Brazil. It can be diagnosed from a combination of clinical manifestations, epidemiology and laboratory tests. For the diagnosis of the disease, some techniques are used, such as: microbiological, histopathological and molecular.

KEYWORDS: Sporotrichosis, feline transmission, *Sporothrix brasiliensis*.

1 | INTRODUÇÃO

A Esporotricose é uma infecção subaguda ou crônica, causada por um fungo termodimórfico do gênero *Sporothrix* é a micose de implantação mais predominante em todo o mundo, sendo mais frequente na América Latina, África e Ásia. Nos primeiros relatos da doença, acreditava-se que o agente etiológico era um fungo dimórfico chamado *Sporothrix schenckii*, mais tarde, métodos filogenéticos moleculares mostraram que esse fungo possui várias espécies similares e uma grande biodiversidade. As espécies do gênero *Sporothrix* são encontradas na natureza, com potenciais patogênicos diferentes e ampla distribuição geográfica (MARIMON et al., 2006, 2007). A taxonomia do gênero é classificada de acordo com suas características morfológicas, além do perfil molecular (QUEIROZ-TELLES; BUCCHERI; BENARD, 2019).

A esporotricose é considerada uma micose endêmica negligenciada e *Sporothrix brasiliensis* está intimamente relacionado a epidemias em várias regiões, com destaque para o Rio de Janeiro, onde é considerada hiperendêmica, com casos alarmantes em todo

o estado (MARIMON et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2011). A espécie emergiu após grandes surtos de Esporotricose de Transmissão Felina (ETF) documentados em vários países, no entanto a transmissão zoonótica ganhou importância a partir dos anos 80 (FREITAS, 2014). Na ETF, o agente é transmitido em fase leveduriforme do gato para o humano, por maneiras traumáticas como mordidas, arranhões e também por secreções das lesões de felinos infectados. A fácil transmissão entre os gatos, e então para o humano, é responsável por surtos zoonóticos, o que ressalta a importância de estudos sobre a doença (ALMEIDA-PAES et al., 2014; RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2016; QUEIROZ-TELLES; BUCCHERI; BENARD, 2019).

O diagnóstico humano e animal é fundamental para o controle da esporotricose. Para o diagnóstico morfológico, são observadas características macro e micromorfológicas do fungo após crescimento em cultura. As espécies possuem diferentes características, como certa termotolerância, tamanho e formato de colônias (OROFINO-COSTA et al., 2017). Atualmente, métodos moleculares têm sido cada vez mais utilizados para identificação das espécies de *Sporothrix* spp., inclusive o desenvolvimento de vários marcadores genéticos para reconhecimento e identificação de amostras clínicas. Testes de diagnóstico molecular, como a PCR espécie específica, utilizam iniciadores que amplificam seletivamente o DNA, portanto, as sequências são mantidas em uma única espécie alvo. Essa técnica, é uma ferramenta molecular capaz de detectar e identificar pequenas partes de DNA de patógenos, gerando mais possibilidades na pesquisa sobre o causador da esporotricose. O sequenciamento de DNA, embora não utilizado na rotina laboratorial, é muito importante para o reconhecimento da diversidade genética e caracterização da espécie, como *S. brasiliensis* (OROFINO-COSTA et al., 2017; TEIXEIRA et al., 2014).

2 | HISTÓRICO

A primeira vez que um fungo desse gênero foi descrito se deu em 1898, por Benjamin Schenck, em um indivíduo do sexo masculino, com lesões em mão e braço direitos, no Hospital Johns Hopkins em Baltimore (Estados Unidos). Schenck realizou o primeiro isolamento desse fungo. Em 1900, ocorreu o segundo caso, também nos Estados Unidos, mas na cidade de Chicago, descrito por Hektoen e Perkins. Utilizando o aspirado de lesão cutânea de um menino, realizaram o isolamento do fungo, e então os dois autores classificaram pela primeira vez o agente etiológico, denominando-o de *Sporothrix schenckii*, em homenagem ao Benjamin Schenck (HEKTOEN; PERKINS, 1900; SCHENCK., 1898). Beurmann e Gougerot, entre 1903 e 1912, descreveram pela primeira vez o acometimento das mucosas, além das formas clínicas e a terapêutica da doença. Posteriormente, lançaram o trabalho “Les Sporotrichoses”, famoso na área da micologia (CARMICHAEL, 1962; DE BEURMANN; GOUGEROT, 1912).

O primeiro relato da esporotricose no Brasil foi feito 1907 por Lutz e Splendore que

descreveram a infecção natural da doença em humanos e em ratos, sendo observadas as formas linfocutâneas e extracutâneas da doença, além da patogenicidade da levedura (cultivo *in vitro*), devido a um caso humano relatado no Brasil, no estado de São Paulo (LUTZ; SPLENDORE, 1907). Em relação a esporotricose naturalmente adquirida em felinos, Singer & Muncie sugeriram pela primeira vez a possível transmissão zoonótica, em 1952 na cidade de Nova York (Estados Unidos). Somente em 1956 houve o primeiro caso registrado de esporotricose felina no Brasil e foi relatado por Freitas e seus colaboradores (FREITAS et al., 1956; GUARRO; GENÉ; STCHIGEL, 1999).

No entanto, a ETF só recebeu a devida importância em 1982, por Read e Sperling, no estado de Washington (Estados Unidos), quando relataram a doença em pacientes que tiveram contato com um gato adoecido por Esporotricose. A partir deste momento, foi documentada em vários locais, globalmente, a transmissão desta zoonose via gatos domésticos (FLEURY et al., 2001; LARSSON et al., 1989; MARQUES et al., 1993). Em 1998, houve o primeiro relato da ETF, por arranhadura, no estado do Rio de Janeiro (Brasil). (MARIMON et al., 2007). Diversas espécies de *Sporothrix* spp. foram descritas, sendo as de relevância clínica associadas a esporotricose humana: *Sporothrix schenckii sensu stricto*, *Sporothrix brasiliensis*, *Sporothrix mexicana*, *Sporothrix globosa*, *Sporothrix luriei*, *Sporothrix pallida* e *Sporothrix chilensis*. Embora o Brasil esteja enfrentando o maior surto de esporotricose da história, sua notificação não é compulsória em todo território nacional. No estado do Rio de Janeiro apenas em 2013 através da resolução nº 674 de 12 de julho de 2013 a doença passou a ser de notificação (CÔRTEZ, 2013; GREMIÃO et al., 2017).

A figura 1 a seguir, demonstra, brevemente, uma linha do tempo dividida em *Sporothrix schenckii* e *Sporothrix brasiliensis*:

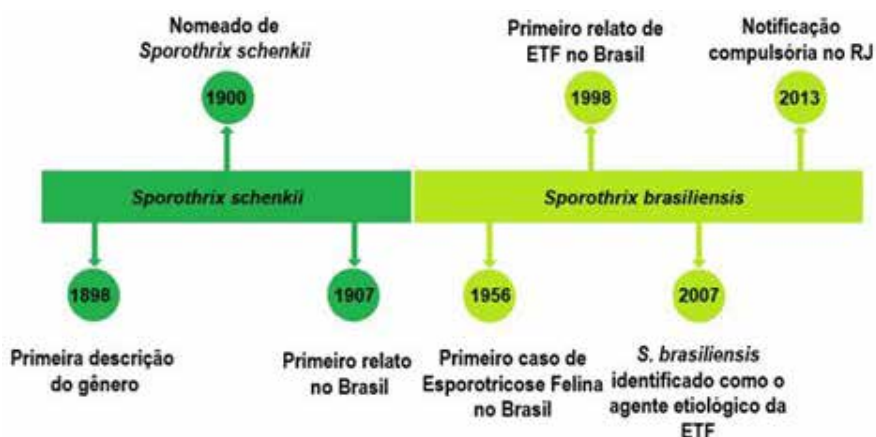


FIGURA 1 – LINHA DO TEMPO DO *S.schenckii* E *S.brasiliensis*.

FONTE: Os autores (2021).

31 O AGENTE - *SPOROTHRIX BRASILIENSIS*

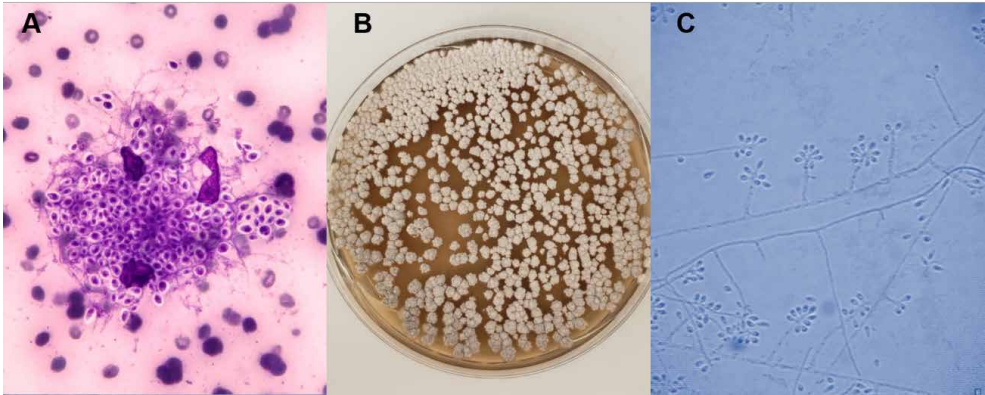
Durante muito tempo acreditou-se que a esporotricose possuía apenas um agente etiológico, *Sporothrix schenckii*, entretanto a partir do ano de 2006 estudos revelaram variabilidade genética entre isolados morfológicamente semelhantes, garantindo a descrição de novas espécies conforme suas regiões geográficas: *S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. mexicana*, *S. luriei*, *S. pallida* e *S. chilensis* (BOECHAT et al, 2018).

Para a identificação do *Sporothrix brasiliensis*, o diagnóstico laboratorial padrão-ouro é o isolamento do fungo em meio de cultura, o qual pode ser obtido por aspirado de lesão, *swab*, biópsia, entre outros (OLIVEIRA et al., 2014; RIPPON, 1988). Pode-se também realizar o exame micológico direto para visualização das células leveduriformes na amostra, entretanto a sensibilidade é baixa em humanos (1-2%). Em contrapartida, em felinos a sensibilidade é alta (79-87%) devido à grande carga fúngica nas lesões (ROSSOW, 2020).

A realização da cultura permite a identificação do gênero do fungo (*Sporothrix* spp.), mas para a caracterização das espécies são utilizados métodos moleculares, como sequenciamento de DNA, e mais recentemente têm sido estudadas técnicas por espectrometria de massa (OLIVEIRA et al., 2011). Para o isolamento do fungo em cultura, o material clínico é semeado em meio específicos e incubado entre 28 e 30°C. O tempo de crescimento é variável, de acordo com a carga fúngica, em geral após 7 a 10 dias já é possível observar algumas características do fungo, mas em torno de 20 dias a visualização apresenta estruturas específicas (BOECHAT, 2015; MARIMON et al., 2007; OLIVEIRA, 2009; OLIVEIRA et al., 2011; RODRIGUES, 2010). Macroscopicamente, as colônias possuem textura aveludada, são inicialmente brancas e gradualmente tornam-se marrom escuro ou até negras pela presença de melanina. Microscopicamente, o *S. brasiliensis* pode apresentar conídio melanizado, circulares e sésseis, dispostos simpodialmente lembrando formato de “margarida” (CHANDLER; KAPLAN; AJELLO, 1980; MORRIS-JONES, 2002; RAMOS-E-SILVA, VASCONCELOS, CARNEIRO, 2007).

Na fase parasitária ou leveduriforme em meios de cultura apropriados (como o BHI) a 35-37°C, macroscopicamente, as colônias possuem cor esbranquiçada/amarelada com textura cremosa (DE LIMA BARROS; DE ALMEIDA PAES; SCHUBACH, 2011; MADRID et al., 2010; TRILLES et al., 2005). Microscopicamente, se apresentam em formas ovaladas, redondas ou em forma de charuto (MARQUES-EVANGELISTA et al., 2010).

A figura 2 a seguir, mostra um exemplo da análise macro e micromorfológica do fungo.



LEGENDA: **A** – EXAME MICOLÓGICO DIRETO DE FELINO MOSTRANDO GRANDE QUANTIDADE DE CÉLULAS LEVEDURIFORMES OVALADAS COM DIÂMETRO ENTRE 2-6 μ m, COLORAÇÃO DE GIEMSA (AUMENTO 1000X); **B** – COLÔNIAS NA FASE FILAMENTOSA DE *Sporothrix brasiliensis* EM AGAR SABOURAUD; **C** – MICROMORFOLOGIA DE *Sporothrix brasiliensis* MOSTRANDO CONÍDIOS EM FORMA DE MARGARIDA, COLORAÇÃO DE LACTOFENOL AZUL (AUMENTO DE 400X).
 FONTE: Os autores (2021).

FIGURA 2 – CARACTERÍSTICAS MACRO E MICROMORFOLÓGICAS DE *Sporothrix brasiliensis*.

É característico de *S. brasiliensis* um diâmetro menor que 50 mm, com um mínimo equivalente a 20 mm a 30°C em meio PDA. Já a 37°C, o diâmetro de colônias é em torno de 2 mm o mínimo, e 23 mm o máximo (BOECHAT, 2015; OLIVEIRA, 2009; OLIVEIRA et al., 2011). Também, apresenta temperatura ótima de crescimento a 30°C e termotolerante a 37°C. Com conversão, inicialmente parcial e posteriormente completa, da forma filamentosa para forma leveduriforme (ALMEIDA-PAES et al., 2015; BOECHAT, 2015; OLIVEIRA, 2009; OLIVEIRA et al., 2011; RODRIGUES, 2010).

Sandhu e colaboradores (1995) foram os pioneiros no desenvolvimento do método de detecção do DNA para o diagnóstico fúngico. Esses autores desenvolveram primers específicos para diversos fungos alvos, incluindo o gênero *Sporothrix*. A identificação das espécies de interesse clínico é possível devido aos limites moleculares já estabelecidos, o que permite a geração de marcadores genéticos para a caracterização de *S. brasiliensis* (OROFINO-COSTA et al., 2017; RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2016).

Para a caracterização das espécies, o que não é realizado rotineiramente pelos laboratórios clínicos, devido ao alto custo é o sequenciamento de DNA do gene que codifica a calmodulina (considerada padrão para identificação a nível de espécie) e a região ITS (*nuclear ribosomal internal transcribed spacer*) (MARIMON et al., 2006; RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2015; ZHANG et al., 2015).. O polimorfismo nas sequências de nucleotídeos no fragmento do gene CAL, é a base molecular responsável pela diferenciação das espécies do gênero *Sporothrix* (MARIMON et al., 2007).

Existem diferentes primers específicos para PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) que amplificam o DNA seletivamente das espécies patogênicas, todavia esse método ainda

é restrito aos laboratórios de pesquisa. As sequências de primers são preservadas dentro da espécie alvo, como a *S. brasiliensis*. Esta ferramenta molecular possui alta sensibilidade e especificidade, mesmo na presença do DNA do hospedeiro (RODRIGUES; DE HOOG; DE CAMARGO, 2015).

Os fungos, especificamente *S. brasiliensis*, desenvolvem mecanismos de virulência por questão de sobrevivência e adaptação, o que pode ocasionar alterações no diagnóstico. Portanto, é fundamental a utilização dessas técnicas combinadas, para a identificação e maior conhecimento sobre o patógeno (MARIMON et al., 2007).

O que não se pode negar é que a esporotricose é uma doença emergente, onde o número de casos tem levado pesquisadores de múltiplas áreas, como médicos, microbiologistas, epidemiologistas, veterinários, micologistas, cientistas ambientais, e muitos outros para discussões mais intensas sobre a doença.

Nesse sentido o conceito de “*One Health*” (figura 3) que traz uma abordagem colaborativa, multissetorial e transdisciplinar, adequa-se perfeitamente à esporotricose, uma vez que nessa patologia a saúde humana está conectada à saúde dos animais e ao meio ambiente. Sendo assim, todos aqueles que de alguma forma trabalham ou pesquisam sobre esporotricose devem formar uma espécie de rede de contato, informando, comunicando, notificando e publicando, a fim de obter melhores resultados de saúde para pessoas, animais e todo ecossistema contribuindo para o controle da doença.

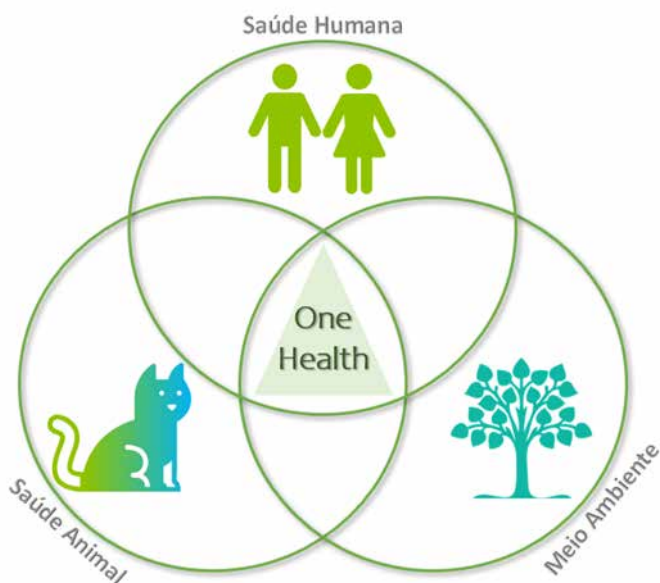


FIGURA 3 – ILUSTRAÇÃO DO CONCEITO “ONE HEALTH”.

FONTE: Os autores, (2021).

Sabe-se que *S. brasiliensis* é um fungo altamente virulento e que tem envolvimento com grandes surtos zoonóticos, portanto, é importante que outros estudos ocorram nessa esfera, contribuindo para o entendimento e disseminação de informação, tanto para humanos quanto para animais.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA-PAES, R. et al. **Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: *Sporothrix brasiliensis* Is Associated with Atypical Clinical Presentations**. v. 8, n. 9, 2014.

ALMEIDA-PAES, R. et al. **Phenotypic characteristics associated with virulence of clinical isolates from the sporothrix complex**. BioMed Research International, v. 2015, 2015.

BOECHAT, J. S. **Caracterização fenotípica e molecular de isolados clínicos de *Sporothrix* spp. provenientes de gatos do Rio de Janeiro**. p. 59, 2015.

BOECHAT, J. S.; OLIVEIRA, M. M. E.; ALMEIDA-PAES, R.; et al. **Feline sporotrichosis: Associations between clinical-epidemiological profiles and phenotypic-genotypic characteristics of the etiological agents in the Rio de Janeiro epizootic area**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 113, n. 3, p. 185–196, 2018.

BRASIL. **PORTARIA N. 264, DE 17 DE FEVEREIRO DE 2020**. Disponível em: <https://bvsvms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2020/prt0264_19_02_2020.html>. Acesso em: 14 nov. 2020.

CARMICHAEL, J. W. **CHRYSOSPORIUM AND SOME OTHER ALEURIOSPORIC HYPHOMYCETES**. Canadian Journal of Botany, v. 40, n. 8, p. 1137–1173, 1 ago. 1962.

CHANDLER, F. W.; KAPLAN, W.; AJELLO, J. **A colour atlas and textbook of the histopathology of mycotic diseases**. London: Wolfe Medical Publications Ltd., 1980.

CÔRTEZ, S. **Resolução SES N. 674 DE 12/07/2013**. Rio de Janeiro, 2013.

DE LIMA BARROS, M. B.; DE ALMEIDA PAES, R.; SCHUBACH, A. O. ***Sporothrix schenckii* and sporotrichosis**. Clinical Microbiology Reviews, v. 24, n. 4, p. 354–633, 2011.

FLEURY, R. N. et al. **Zoonotic sporotrichosis. Transmission to humans by infected domestic cat scratching: report of four cases in Sao Paulo, Brazil**. International journal of dermatology, v. 40, n. 5, p. 318–322, 2001.

FREITAS, D.; MIGLIANO, M.; ZANI NETO, L. **Esporotricose - Observação de caso espontâneo em gato doméstico (*F. catus*)**. Rev Fac Med Vet Univ São Paulo 1956;5(4):601-604.

FREITAS, D. F. S. **Avaliação de fatores epidemiológicos, micológicos, clínicos e terapêuticos associados à esporotricose**. 2014. 148. Doutorado em Medicina Tropical- FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2014.

GREMIÃO, I. D. F. et al. **Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission**. PLOS Pathogens, v. 13, n. 1, 19 jan. 2017.

GUARRO, J.; GENÉ, J.; STCHIGEL, A. M. **Developments in fungal taxonomy. Clinical microbiology reviews.** V. 12, n. 3, p. 454–500, 1999.

HEKTOEN, L.; PERKINS, C. F. **Refractory subcutaneous abscesses caused by *Sporothrix schenckii*. a new pathogenic fungus.** Journal of Experimental Medicine, v. 5, n. 1, p. 77–89, 1900.

LARSSON, C. E. et al. **Esporotricose Felina: Aspectos Clínicos e Zoonóticos.** Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v. 31, n. 5, p. 351–358, 1989.

LOPES-BEZERRA, L. M. et al. **Sporotrichosis between 1898 and 2017: The evolution of knowledge on a changeable disease and on emerging etiological agents.** Medical Mycology, v. 56, p. S126–S143, 2018.

LUTZ, D. A.; SPLENDORE, A. **Sobre uma micose observada em homens e ratos: contribuição para o conhecimento das assim chamadas esporotricoses.** Revista Médica de São Paulo, v. 21, p. 433–450, 1907.

MADRID, I. M. et al. **Role of melanin in the pathogenesis of cutaneous sporotrichosis.** Microbes and infection, v. 12, n. 2, p. 162–165, 2010.

MARQUES, S. A. et al. **Sporotrichosis of the domestic cat (*Felis catus*): human transmission.** Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 1993.

MARQUES-EVANGELISTA, M. et al. **Sporotrichosis caused by *Sporothrix globosa* in Rio de Janeiro, Brazil: case report.** Mycopathologia, v. 169, n. 5, p. 359–363, 2010.

MARIMON, R. et al. **Molecular phylogeny of *Sporothrix schenckii*.** Journal of Clinical Microbiology, v. 44, n. 9, p. 3251–3256, 2006.

MARIMON, R. et al. ***Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest.** Journal of Clinical Microbiology, v. 45, n. 10, p. 3198–3206, 2007.

MORRIS-JONES, R. **Sporotrichosis.** Clin. Exp. Dermatology, 2002.

OLIVEIRA, M. M. E. DE. **Identificação e análise filogenética de espécies do gênero *Sporothrix*.** 2009.

OLIVEIRA, M. M. E. et al. **Phenotypic and Molecular Identification of *Sporothrix* Isolates from an Epidemic Area of Sporotrichosis in Brazil.** Mycopathologia, v. 172, n. 4, p. 257–267, 2011.

OLIVEIRA, M. M. E. et al. **Molecular identification of the *Sporothrix schenckii* complex.** Revista iberoamericana de micologia, v. 31, n. 1, p. 2–6, 2014.

OROFINO-COSTA, R. et al. **Sporotrichosis: An update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics.** Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 92, n. 5, p. 606–620, 2017.

QUEIROZ-TELLES, F.; BUCCHERI, R.; BENARD, G. **Sporotrichosis in immunocompromised hosts.** Journal of Fungi, v. 5, n. 1, p. 1–23, 2019.

RAMOS-E-SILVA M, VASCONCELOS C, CARNEIRO S, C. T. **Sporotrichosis**. Clin Dermatol, p. 181, 2007.

RIPPON, J. W. **Sporotrichosis**. In: Medical Mycology. 3. ed. Philadelphia: WB Saunders Company, p. 325–352, 1988.

RODRIGUES, A. M. **Taxonomia polifásica e características proteômicas do complexo *Sporothrix schenckii***. p. 241, 2010.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G. S.; DE CAMARGO, Z. P. **Molecular Diagnosis of Pathogenic *Sporothrix* Species**. PLoS Neglected Tropical Diseases, v. 9, n. 12, p. 1–22, 2015.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G. S.; DE CAMARGO, Z. P. ***Sporothrix* Species Causing Outbreaks in Animals and Humans Driven by Animal–Animal Transmission**. PLoS Pathogens, v. 12, n. 7, p. 1–7, 2016.

ROSSOW, J. A. et al. **A one health approach to combatting *Sporothrix brasiliensis*: Narrative review of an emerging zoonotic fungal pathogen in south america**. Journal of Fungi, v. 6, n. 4, p. 1–27, 2020.

SCHENCK. **On refractory subcutaneous abscesses caused by a fungus possibly related to the *Sporotricha***. Bull John Hopkins Hosp, v. 9, p. 286–290, 1898.

TEIXEIRA, M. M. et al. **Comparative genomics of the major fungal agents of human and animal Sporotrichosis: *Sporothrix schenckii* and *Sporothrix brasiliensis***. BMC Genomics, v. 15, n. 1, p. 1–22, 2014.

TRILLES, L. et al. **In vitro antifungal susceptibilities of *Sporothrix schenckii* in two growth phases**. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 49, n. 9, p. 3952–3954, 2005.

ZHANG, Y. et al. **Phylogeography and evolutionary patterns in *Sporothrix* spanning more than 14.000 human and animal case reports**. p. 1–20, 2015.

CAPÍTULO 5

Acinetobacter baumannii: INFECÇÕES ASSOCIADAS, RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA, TRATAMENTO, PREVENÇÃO E CONTROLE

Data de aceite: 01/09/2021

Ivina Meneses dos Santos e Silva

Departamento de Enfermagem, Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Júlia Rodrigues Holanda

Departamento de Enfermagem, Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Rebeca dos Santos Miranda de Oliveira

Departamento de Enfermagem, Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Antonio Rosa de Sousa Neto

Departamento de Enfermagem, Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Inara Viviane de Oliveira Sena

Programa de Pós-Graduação em Enfermagem; Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Rosângela Nunes Almeida

Programa de Pós-Graduação em Enfermagem; Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Kelly Myriam Jimenez de Aliaga

Programa de Pós-Graduação em Enfermagem; Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

Daniela Reis Joaquim de Freitas

Programa de Pós-Graduação em Enfermagem; Departamento de Parasitologia e Microbiologia, Universidade Federal do Piauí
Teresina – Piauí

RESUMO: Bactérias do gênero *Acinetobacter* são comumente encontradas no meio ambiente, como o solo e a água e compreende cocobacilos gram-negativos não esporulados, não fermentadores de glicose, aeróbios estritos, catalase positivo, oxidase negativo e com motilidade negativa. Atualmente, o gênero compreende 31 espécies, mas *Acinetobacter baumannii* se destaca como a principal espécie de importância clínica. Ela é responsável pela maioria das infecções em seres humanos, sendo mais comumente encontrada em ambientes hospitalares, principalmente em Unidades de Terapia Intensiva. Causa uma variedade de infecções nosocomiais, endocardite, meningite, infecções de pele, feridas e infecções do trato urinário. Sua incidência em hospitais pode ser considerada um grande problema do ponto de visto do controle de infecções, pois esta espécie é capaz de sobreviver por longos períodos em objetos inanimados, podendo ser transmitida diretamente ou por meio dos profissionais de saúde ou passada de paciente para paciente, por meio de gotículas, escarros, secreções ou feridas. O diagnóstico de *A. baumannii* podem ser realizado por meio de testes laboratoriais tradicionais; a utilização de espectrometria de massa, realizada pelo procedimento MALDI-TOF, que também facilita a identificação de

mecanismos de resistência. Também há outros métodos, baseados na inibição da atividade enzimática por inibidores específicos, o teste de sinergia de disco duplo e Etest MBL e o ensaio de disco combinado KPC. Além disso, ainda existem os métodos moleculares para a detecção de carbapenemases, considerados padrão ouro por sua alta sensibilidade e especificidade, baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR), a qual permite a identificação de diversos genes codificadores. O tratamento é realizado com carbapenêmicos, entretanto, atualmente muitos isolados desse patógeno têm se tornado amplamente resistentes a esses fármacos. Assim, tem-se usado as polimixinas e os aminoglicosídeos possuem utilização limitada devido a incapacidade de atingir devidamente os pulmões e o sistema nervoso central. Já o sulbactam, geralmente prescrito em combinação a ampicilina ou cefoperazona, deve ser usado com mais cautela devido a constatação da existência de novas cepas resistentes. Por fim, o cefiderocol emergiu como uma nova alternativa para o tratamento de infecções por *A. baumannii* resistentes aos carbapenêmicos.

PALAVRAS-CHAVE: *Acinetobacter baumannii*; resistência microbiana; tratamento; controle.

Acinetobacter baumannii: ASSOCIATED INFECTIONS, ANTIMICROBIAL RESISTANCE, TREATMENT, PREVENTION AND CONTROL

ABSTRACT: Bacteria of the genus *Acinetobacter* are commonly found in the environment, such as soil and water, and comprise non-sporulated gram-negative coccobacilli, glucose non-fermenters, strict aerobics, catalase-positive, oxidase negative, and negative motility. Currently, the genus comprises 31 species, but *Acinetobacter baumannii* stands out as the main species of clinical importance. It is responsible for most infections in humans, is most commonly found in hospital environments, especially in Intensive Care Units. It causes a variety of nosocomial infections, endocarditis, meningitis, skin infections, wounds, and urinary tract infections. Its incidence in hospitals can be considered a major problem from the point of view of infection control, as this species is able to survive for long periods in inanimate objects, and can be transmitted directly or through health professionals or passed from patient to patient, through droplets, sputum, secretions or wounds. Diagnosis of *A. baumannii* can be made using traditional laboratory tests; the use of mass spectrometry, performed by the MALDI-TOF procedure, which also facilitates the identification of resistance mechanisms. There are also other methods, based on the inhibition of enzyme activity by specific inhibitors, the double-disk synergy test and Etest MBL and the combined disk KPC assay. Furthermore, there are still molecular methods for the detection of carbapenemases, considered the gold standard for their high sensitivity and specificity, based on the polymerase chain reaction (PCR), which allows the identification of several coding genes. Treatment is carried out with carbapenems, however, currently, many isolates of this pathogen have become largely resistant to these drugs. Thus, polymyxins and aminoglycosides have been used with limited use due to their inability to properly reach the lungs and the central nervous system. Sulbactam, on the other hand, usually prescribed in combination with ampicillin or cefoperazone, should be used with more caution due to the confirmation of the existence of new resistant strains. Finally, cefiderocol emerged as a new alternative for the treatment of carbapenem-resistant *A. baumannii* infections.

KEYWORDS: *Acinetobacter baumannii*; microbial resistance; treatment; control.

INTRODUÇÃO

Bactérias do gênero *Acinetobacter* são comumente encontradas no meio ambiente, como o solo e a água (CDC, 2019). Gênero esse que compreende cocobacilos gram-negativos (cocoides na fase estacionária), não esporulados, que bioquimicamente, não fermentam glicose, aeróbios estritos, catalase positivo, oxidase negativo e com motilidade negativa. Atualmente, o gênero compreende 31 espécies com nomes taxonomicamente validados e 10 espécies genômicas definidas por Híbridação de Southern. Dentro do gênero, *Acinetobacter baumannii* se destaca como a principal espécie de importância clínica (TRABULSI; ALTERTHUM, 2015).

Acinetobacter baumannii é responsável pela maioria das infecções em seres humanos, sendo mais comumente encontrada em ambientes hospitalares, principalmente em Unidades de Terapia Intensiva (UTI). Causa uma variedade de infecções nosocomiais, como: bacteremia, pneumonia, endocardite, meningite, infecções de pele, feridas e infecções do trato urinário (SAIPRIYA *et al.*, 2019). Além disso, esta bactéria pode colonizar pacientes sem causar infecções ou sintomas, especialmente em secreções respiratórias ou feridas abertas (CDC, 2019).

A incidência de *A. baumannii* nos hospitais pode ser considerada um grande problema do ponto de vista do controle de infecções, pois esta espécie é capaz de sobreviver por longos períodos em objetos inanimados, superfícies situadas nas imediações próximas ao paciente debilitado, podendo ser transmitida diretamente ou por meio das mãos dos profissionais de saúde, ou, ainda, ser passada de paciente para paciente, por meio de gotículas, escarros, secreções ou feridas (SCARCELLA; SCARCELLA; BERETTA, 2017).

Com o passar do tempo, essa bactéria tem se tornado menos suscetível a muitos antimicrobianos disponíveis, devido os seus vários mecanismos de resistência, com a hidrólise por carbapenemases do tipo OXA e metalo- β -lactamases sendo considerados os mecanismos mais prevalentes que conferem resistência à maioria dos antibióticos beta-lactâmicos e reduzem as opções terapêuticas (KURIHARA *et al.*, 2020). Dessa forma, a presente revisão narrativa tem como objetivo discutir sobre os aspectos relacionados a *Acinetobacter baumannii* como as infecções associadas, mecanismos de resistência antimicrobiana, formas de tratamento e estratégias visando a prevenção e controle.

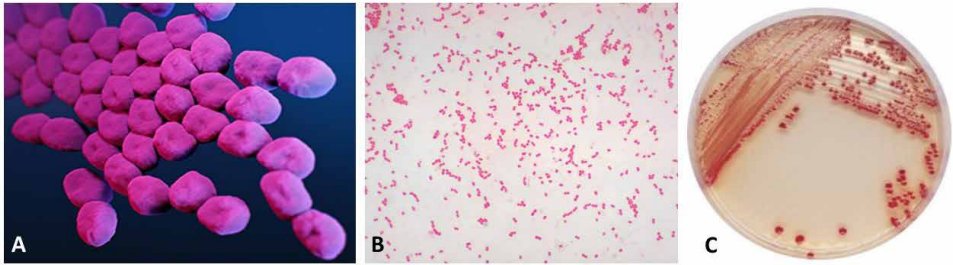


Figura 1. *Acinetobacter baumannii*. A, microscopia de varredura; B, coloração de Gram; C, cultura bacteriana de *A. baumannii* em meio Cromoágar.

Fonte: (A) https://www.cdc.gov/hai/images/acinetobacter_369x285.png; (B) <https://www.luciacangussu.bio.br/atlas/acinetobacter-spp/>; (C) <http://www.chromagar.com/clinical-microbiology-chromagar-acinetobacter-focus-on-acinetobacter-50.html#.YLwYEPIKhPY>.

INFECÇÕES ASSOCIADAS

Conforme o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) no ano de 2017 *Acinetobacter* resistente a carbapenem causou cerca de 8.500 infecções em pacientes hospitalizados e 700 mortes estimadas nos Estados Unidos (CDC, 2019).

O local corporal mais passível de infecção por *A. baumannii* é o trato respiratório; dessa forma, é comum a ocorrência de casos de pneumonias associadas a essa bactéria (LI *et al.*, 2017). Atualmente, a Pneumonia Associada à Ventilação Mecânica (PAV) é considerada uma das infecções mais adquiridas nas UTIs, causando taxa geral de mortalidade hospitalar alta (63,3%). A mesma, tem como fatores de risco a gravidade da doença na admissão na UTI, com a maior permanência hospitalar antes da UTI e antes da Ventilação Mecânica (VM) estando associadas a maior resistência aos antimicrobianos. Ressalta-se que o reconhecimento e tratamento tardio da PAV está relacionado ao maior número de mortes e de gastos com cuidados de saúde (ČIGINSKIENĖ *et al.*, 2019).

A bacteremia, presença de bactéria na corrente sanguínea, causada por *A. baumannii* tornou-se uma infecção nosocomial comum em pacientes graves, podendo evoluir para a morte em cerca de 68,60% dos acometidos. Posto isso, a utilização de cateter venoso central e o tempo de hospitalização superior a duas semanas foram ambos associados à mortalidade em pacientes infectados com bacteremia pelo patógeno em questão, conforme descreve um estudo realizado com pacientes adultos atendidos em um pronto-socorro localizado em Pequim, China (SUN *et al.*, 2020). Também pode causar bacteremia adquirida na comunidade, entretanto, a bacteremia adquirida no hospital está associada a um prognóstico desfavorável (CHUSRI *et al.*, 2019).

Aendocardite infecciosa causada por *A. baumannii* possui ocorrência rara. Entretanto, é grave e afeta principalmente pacientes críticos, hospitalizados e que foram submetidos a procedimentos invasivos (LAHMIDI *et al.*, 2020). A mesma, possui morbimortalidade notável,

com a sua ocorrência sendo problemática devido ao aumento da resistência antimicrobiana, tendo a válvula aórtica como o local de infecção mais comum, seguido pela válvula mitral. Pode causar febre, sepse, insuficiência cardíaca e fenômenos embólicos, com o índice de mortalidade chegando a cerca de 32,4% (IOANNOU; MAVRIKAKI; KOFTERIDIS, 2020).

A meningite é outro tipo de infecção raramente causada por *A. baumannii*. Porém, é uma ameaça crescente em unidade de terapia intensiva neurológica, levando a cerca de 70% dos casos a óbito, principalmente nos pacientes com tubos de ventriculostomia de demora ou fístulas cerebrais e recebendo terapia antimicrobiana pós-cirúrgica. Além disso, idade acima de 40 anos, presença de dreno ventricular externo, contagem elevada de leucócitos no líquido cefalorraquidiano e presença de comorbidades (diabetes e hipertensão) também são fatores de risco para mortalidade por *A. baumannii* nas UTIs neurocirúrgicas. Na literatura, já foi descrita prevalência de 33,64% em pacientes após cirurgias neurocirúrgicas (MOUBARECK; HALAT, 2020).

As infecções de pele e tecidos moles também são possíveis, principalmente em pacientes com queimaduras, feridas ou traumas graves, tendo como exemplo, soldados feridos durante operações militares ou vítimas de desastres naturais. *A. baumannii* já foi identificada em infecções de feridas de guerra e osteomielite, em fraturas expostas da tíbia, feridas ou tecidos moles, especialmente após lesão traumática, aumentando o período de internação e aumentando a mortalidade dos infectados (MOUBARECK; HALAT, 2020). Com um estudo realizado na Arábia Saudita com pessoas saudáveis descrevendo maior predisposição de *Acinetobacter baumannii* de acometer mulheres e homens idosos (SHAMI *et al.*, 2019).

Por fim, as infecções do trato urinário por *A. baumannii* são de extrema relevância clínica. Apesar disto, o seu papel como uropatógeno ainda é amplamente negligenciado, com até um quinto dos isolados de *A. baumannii* sendo obtidos de fontes urinárias, de acordo com um estudo retrospectivo local e uma revisão sistemática da literatura dos últimos 25 anos. Além disso, o mesmo estudo ainda descreveu que o embora apenas aproximadamente 2% do total de Infecções do Trato Urinário (ITU) seja atribuído ao *Acinetobacter* em estudos de vigilância global, vários estudos de centro único relatam que o presente patógeno é uma das principais causas de infecções associadas a cateter, especialmente em unidades de terapia intensiva (VENANZIO *et al.*, 2019).



Figura 2. Esquema mostrando as principais infecções causadas por *A. baumannii*.

RESISTÊNCIA MICROBIANA

A resistência microbiana é a capacidade que um micro-organismo apresenta de resistir aos efeitos do medicamento antimicrobiano previamente utilizado para destruí-lo (RICAS; MARQUES; YAMAMOTO, 2013); *A. baumannii* tem se tornado uma das principais causas de numerosos surtos globais e apresenta crescentes taxas de resistência ao longo dos anos (FEITOSA *et al.*, 2011). Este patógeno pode adquirir resistência por meio de processos como: conjugação, transformação, transposição e transdução. No processo de conjugação há a transferência de genes através do contato com outras células bacterianas; na transformação ocorre a doação de genes de uma célula para outra, sem que exista contato entre elas, e posterior incorporação deles pela célula receptora; na transposição verifica-se a passagem de genes resistentes a partir de transposons; e no processo de transdução há a transferência dos genes mediante a ação de um vírus, ou seja, um bacteriófago.

O aumento do uso indiscriminado de antimicrobianos tem por consequência o

desenvolvimento de diversos mecanismos que irão garantir a resistência a diversas drogas, como a presença de uma enzima que inativa o agente produtor de novas enzimas, a não inibição de proteínas ligadoras de penicilinas, mutação do sítio alvo – reduzindo a afinidade aos medicamentos – diminuição da permeabilidade, bomba de efluxo e outros mecanismos desconhecidos (FEITOSA *et al.*, 2011).

DIAGNÓSTICO

Acinetobacter pode ser identificada por meio da realização de testes laboratoriais tradicionais. Os principais testes utilizados são: observação das características morfológicas com coloração pelo método de Gram; teste de oxidase; teste de catalase; teste de crescimento em caldo a 44°C; e observação da produção de hemólise em ágar-sangue (FIGUEIREDO *et al.*, 2009).

A. baumannii é um bacilo não fermentador, Gram-negativo, oxidase-negativo e sem motilidade. As espécies de origem humana crescem bem em meios sólidos, rotineiramente utilizados em laboratórios de microbiologia clínica, como exemplo, ágar-sangue a 37°C (MADIGAN, 2016). As amostras de pacientes comumente triadas advêm de sangue, urina e escarro ou muco de origem respiratória.

A caracterização correta da espécie pertencente ao complexo *Acinetobacter calcoaceticus/Acinetobacter baumannii* é, contudo, um pouco mais complexa (VANEGAS-MÚNERA; RONCANCIO-VILLAMIL; JIMÉNEZ-QUICENO, 2014). A utilização de espectrometria de massa, realizada pelo procedimento MALDI-TOF, pode proporcionar o reconhecimento das espécies de *Acinetobacter*, assim como facilita a identificação de mecanismos de resistência (BENNETT *et al.*, 2019). O método bioquímico MALDI-TOF (*Matrix Associated Laser Desorption-Ionization – Time of Flight*) caracteriza-se como uma ferramenta na qual a amostra é colocada em uma placa onde existe a matriz polimérica sendo, em seguida, irradiada e vaporizada através da ação de um laser. Com a ionização das partículas da amostra, as moléculas são aspiradas por um tubo de vácuo e direcionadas até um detector; o tempo de chegada ao detector é diferenciado para cada espécie de bactéria e, assim, é possível distingui-las (PASTERNAK, 2012).

Outros procedimentos que merecem destaque para o diagnóstico de *Acinetobacter* são os métodos fenotípicos baseados na inibição da atividade enzimática por inibidores específicos, o teste de sinergia de disco duplo e Etest MBL e o ensaio de disco combinado com antibióticos. Além disso, ainda existem os métodos moleculares para a detecção de carbapenemases, considerados padrão ouro por sua alta sensibilidade e especificidade, baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR), a qual permite a identificação de diversos genes codificadores (NOWAK; PALUCHOWSKA, 2016).

TRATAMENTO

Para o devido tratamento, deve ser realizado primeiramente a identificação precoce da infecção para que sejam estabelecidas medidas de isolamento com a finalidade de não agravar o quadro do enfermo, com a internação devendo ser realizada em um quadro privado ou em um ambiente com outras pessoas com o mesmo quadro de infecção (ANVISA, 2007). Nesse contexto, Infecções causadas por *Acinetobacter baumannii* são geralmente tratadas com o uso de carbapenêmicos, entretanto, atualmente muitos isolados desse patógeno têm se tornado amplamente resistentes a esses fármacos (LEE *et al.*, 2017).

Assim, as polimixinas estão entre as drogas usualmente utilizadas para o tratamento de infecções por *A. baumannii*, tanto em sua forma isolada como em combinação com outras, tendo como desvantagem, a ausência de dosagem terapêutica definida e a capacidade de causar graves reações adversas, como quadros de nefrotoxicidade e neurotoxicidade (ISLER *et al.*, 2019). Similarmente, a tigeciclina possui potencial para combater a maioria das cepas resistentes aos carbapenêmicos, todavia, apresenta risco, como a capacidade de causar efeitos colaterais gastrointestinais, sendo necessária à sua prescrição de forma combinada com outras drogas para diminuir as reações adversas que podem ser provocadas pelo seu uso (DOI, 2019).

Os aminoglicosídeos estão entre as alternativas para o tratamento de infecções por *A. baumannii*, com algumas cepas sendo mais suscetíveis a eles, no entanto, possuem utilização limitada devido a incapacidade de atingir devidamente os pulmões e o sistema nervoso central (BENNETT *et al.*, 2019). Já, o sulbactam, que é um medicamento inibidor de β -lactamase geralmente prescrito em combinação a ampicilina ou cefoperazona, deve ser usado com mais cautela devido a constatação da existência de novas cepas resistentes aos seus mecanismos de atuação (YANG *et al.*, 2018).

Por fim, o cefiderocol emergiu como uma nova alternativa para o tratamento de infecções por *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos. Mais precisamente, é um medicamento β -lactâmico, considerado como uma nova cefalosporina e que atua através da ligação aos íons de ferro livres, sendo transportado até a membrana externa da bactéria que deseja combater (PIPERAKI *et al.*, 2019).

PREVENÇÃO E CONTROLE

Levando em consideração o que foi discutido, as infecções nosocomiais precisam ser prevenidas e controladas. Para isso, faz-se necessária: a criação de políticas para garantir a limpeza e o uso de agentes de limpeza, tanto em superfícies como em dispositivos/aparelhos utilizados durante a assistência; a manutenção do ambiente ventilado e filtrado para evitar o transporte de bactérias pelo ar; a higiene dos profissionais, utilizando desinfetantes adequados para as mãos após o contato com pacientes; a utilização de equipamentos

esterilizados adequadamente; o uso de máscaras, luvas, protetores de cabeça ou uniformes para a prestação de cuidados de saúde; assim como, o manuseio adequado dos resíduos hospitalares, como os resíduos de saúde infecciosos, sendo armazenados na área com abordagem restrita e os resíduos com alto teor de metais pesados e resíduos de cirurgias, indivíduos infectados, contaminados com sangue e escarro e de laboratórios de diagnóstico sendo descartados separadamente e a educação e treinamento constante da equipe de saúde (KHAN; BAIG; MEHBOOB, 2017).

REFERÊNCIAS

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Investigação e Controle de Bactérias Multirresistentes**. 2007. Disponível em: <https://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/reniss/manual%20controle_bacterias.pdf>. Acesso em: 11 de fev de 2021.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **Acinetobacter in Healthcare Settings**. CDC, 2019. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/HAI/organisms/acinetobacter.html>>. Acesso em: 9 de jun de 2021.

CHUSRI, S. *et al.* Clinical characteristics and outcomes of community and hospital-acquired *Acinetobacter baumannii* bacteremia. **Journal Of Microbiology, Immunology And Infection**, v. 52, n. 5, p. 796-806, 2019.

ČIGINSKIENĖ, A. *et al.* Ventilator-Associated Pneumonia due to Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii*: risk factors and mortality relation with resistance profiles, and independent predictors of in-hospital mortality. **Medicina**, v. 55, n. 2, p. 49, 2019.

DOI, Y. Treatment Options for Carbapenem-resistant Gram-negative Bacterial Infections. **Clinical Infectious Diseases**, v. 69, 2019.

FEITOSA, M. S. *et al.* *Acinetobacter baumannii*: resistência a antimicrobianos utilizados em uma Unidade de Terapia Intensiva. In: Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, 15.; Encontro Latino Americano de Pós Graduação, 11.; Encontro Latino Americano de Iniciação Científica Júnior, 5., 2011. **Anais**. Universidade do Vale do Paraíba. Disponível em:<http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2011/anais/arquivos/0003_0013_01.pdf>. Acesso em: 11 fev. 2021.

FIGUEIREDO, D. Q. *et al.* Detecção de metalo-beta-lactamases em amostras hospitalares de *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 45, n. 3, p. 177-184, jun. 2009.

HOCHMAN, S.; PHILIPS, M. **Acinetobacter Species**. In: BENNETT, J. E. *et al.* Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 9. ed. Philadelphia: Elsevier, 2019. p. 2718-2724.

IOANNOU, P.; MAVRIKAKI, V.; KOFTERIDIS, D. P. Infective endocarditis by *Acinetobacter* species: a systematic review. **Journal Of Chemotherapy**, p. 1-13, 2020.

ISLER, B. *et al.* New Treatment Options against Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Infections. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 63, 2019.

KHAN, H. A.; BAIG, F. K.; MEHBOOB, R. Nosocomial infections: epidemiology, prevention, control and surveillance. **Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine**, v. 7, n. 5, p. 478-482, 2017.

KURIHARA, M. N. L. *et al.* Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* outbreaks: a global problem in healthcare settings. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 53, p. e20200248, 2020.

LAHMIDI, I. *et al.* *Acinetobacter Baumannii* Native Valve Infective Endocarditis: a case report. **Cureus**, p. e11527, 2020.

LEE, C.-R. *et al.* Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, n. 55, 2017.

LI, Y. J. *et al.* Pneumonia caused by extensive drug-resistant *Acinetobacter baumannii* among hospitalized patients: genetic relationships, risk factors and mortality. **Bmc Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 371, 2017.

MADIGAN, M. T. **Microbiologia de Brock**. 14 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 960p.

MOUBARECK, C. A.; HALAT, D. H. Insights into *Acinetobacter baumannii*: a review of microbiological, virulence, and resistance traits in a threatening nosocomial pathogen. **Antibiotics**, v. 9, n. 3, p. 119, 2020.

NOWAK, P.; PALUCHOWSKA, P. *Acinetobacter baumannii*: biology and drug resistance – role of carbapenemases. **Folia Histochemica Et Cytobiologica**, Polônia, v. 54, n. 2, p. 61-74, 2016.

PASTERNAK, J. New methods of microbiological identification using MALDI-TOF. **Einstein (São Paulo)**, v. 10, n. 1, p. 118-119, 2012.

PIPERAKI, E.-T. *et al.* Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: in pursuit of an effective treatment. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, n. 8, p. 951-957, 2019.

RICAS, R. V.; MARQUES, T. C.; YAMAMOTO, A. C. A. Perfil de resistência de *Acinetobacter baumannii* a antimicrobianos em um hospital universitário de Cuiabá-MT. **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, v. 25, n. 4, p. 178-181, 2013.

SAIPRIYA, K. *et al.* Quorum-sensing system in *Acinetobacter baumannii*: a potential target for new drug development. **Journal of Applied Microbiology**, v. 128, n.1, p. 15-27, 2019.

SCARCELLA, A. C. A.; SCARCELLA, A. S. A.; BERETTA, A. L. R. Z. Infecção relacionada à assistência à saúde associada a *Acinetobacter baumannii*: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, São Paulo, v. 49, n. 1, p. 18-21, 2017.

SHAMI, A. *et al.* The prevalence of the culturable human skin aerobic bacteria in Riyadh, Saudi Arabia. **Bmc Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 189, 2019.

SUN, R. *et al.* Morbidity and mortality risk factors in emergency department patients with *Acinetobacter baumannii* bacteremia. **World Journal Of Emergency Medicine**, v. 11, n. 3, p. 164-168, 2020.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 6 ed. São Paulo: Atheneu, 2015. 912 p.

VANEGAS-MÚNERA, J. M; RONCANCIO-VILLAMIL, G.; JIMÉNEZ-QUICENO J. N. ACINETOBACTER baumannii: importancia clínica, mecanismos de resistência y diagnóstico. **CES Medicina**, v. 28, n. 2, p. 233-246, 2014.

VENANZIO, G. D. *et al.* Urinary tract colonization is enhanced by a plasmid that regulates uropathogenic *Acinetobacter baumannii* chromosomal genes. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 2763, 2019.

YANG, Y. *et al.* Molecular Epidemiology and Mechanism of Sulbactam Resistance in *Acinetobacter baumannii* Isolates with Diverse Genetic Backgrounds in China. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, 2018.

BACTÉRIAS FIXADORAS DE NITROGÊNIO EM LEGUMINOSAS FORRAGEIRAS TROPICAIS: PROCESSO DE ISOLAMENTO EM NÓDULOS RADICULARES

Data de aceite: 01/09/2021

Data de submissão: 28/05/2021

Mayan Blanc Amaral

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Departamento de Solos
Seropédica, RJ
<https://orcid.org/0000-0001-5514-4966>

Edevaldo de Castro Monteiro

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Depto. de Solos/Instituto de Agronomia
Seropédica, RJ
<https://orcid.org/0000-0002-5091-1449>

Tamiris dos Santos Lopes

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Instituto de Agronomia
Seropédica, RJ
<https://orcid.org/0000-0003-4718-3185>

Thiago Neves Teixeira

Universidade Federal de Viçosa
Departamento de Zootecnia
Viçosa, MG
<https://orcid.org/0000-0002-7793-2581>

Bruno José Rodrigues Alves

Embrapa Agrobiologia
Seropédica, RJ
<https://orcid.org/0000-0002-5356-4032>

axillare. Plantas de *A. pintoi* e *D. heterocarpon* foram coletadas em áreas da Estação de Zootecnia da Ceplac, em Itabela, BA. E plantas de *M. axillare* foram coletadas em áreas do Instituto de Zootecnia da UFFRJ em Seropédica, RJ. As plantas foram acondicionadas em sacos plásticos com solo e conduzidas ao Laboratório de Ecologia Microbiana na Embrapa Agrobiologia, em Seropédica, RJ. Os nódulos foram destacados das raízes e desinfestados superficialmente e em seguida os nódulos foram pressionados em placas de pétri contendo meio YMA com vermelho congo com o objetivo de separar rizóbios de possíveis contaminantes. As placas foram incubadas em BOD a 28° C por 10 dias e as colônias que não absorveram o indicador foram transferidas para placas de pétri contendo meio YMA com Azul de Bromotimol e incubadas em BOD a 28° C por até 10 dias. As colônias foram purificadas, caracterizadas fenotipicamente e armazenadas em tubos contendo meio YMA e óleo mineral. Foram obtidos um total de 20 isolados, sendo: 6 de *A. pintoi*, 8 de *D. heterocarpon* e 6 de *M. axillare*. Em próximas etapas, os isolados serão caracterizados geneticamente e serão conduzidos ensaios com vaso leonard para testar a eficiência simbiótica destes isolados.

PALAVRAS-CHAVE: Isolamento, bactérias simbióticas, caracterização morfocultural.

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi isolar bactérias diazotróficas associadas a nódulos radiculares das espécies forrageiras: *Arachis pintoi*, *Desmodium heterocarpon* e *Macrotyloma*

NITROGEN FIXING BACTERIA IN TROPICAL FORAGE LEGUME: ISOLATING PROCESS IN ROOT NODULES

ABSTRACT: This work aimed to isolate diazotrophic bacteria associated with root nodules of forage species: *Arachis pintoi*, *Desmodium heterocarpon* and *Macrotyloma axillare*. Plants of *A. pintoi* and *D. heterocarpon* were collected in areas of Ceplac in Itabela, BA. And *M. axillare* plants were collected in areas of Zootechnics Institute in Seropédica, RJ. The plants were placed in plastic bags with soil and taken to the Microbial Ecology Laboratory at Embrapa Agrobiologia, in Seropédica, RJ. The nodules were detached from the roots and superficially disinfected, and then the nodules were pressed in petri dishes containing YMA medium with congo red in order to separate rhizobia from possible contaminants. The petri dishes were incubated in BOD at 28 ° C for 10 days and colonies that did not absorb the indicator were transferred to petri dishes containing Bromotimol Blue YMA medium and incubated in BOD at 28 ° C for 10 days. Colonies were purified, phenotypically characterized and stored in tubes containing YMA medium and mineral oil. A total of 20 isolates were obtained: 6 from *A. pintoi*, 8 from *D. heterocarpon* and 6 from *M. axillare*. In next steps, the isolates will be genetically characterized and Leonard pot assays will be conducted to test the symbiotic efficiency.

KEYWORDS: Isolation, symbiotic bacteria, morphocultural characterization.

1 | INTRODUÇÃO

A pecuária Brasileira caracteriza-se por ser quase que exclusivamente extensiva, utilizando plantas forrageiras no pastejo direto ou fornecidas no cocho na forma de silagem, feno ou ingredientes de rações (PAULINO & PAULINO, 2003; MONTEIRO et al. 2018). Dos cerca de 173 milhões de hectares de pastagens no Brasil, 117 milhões de hectares são de pastagens cultivadas, com uma lotação média de 0,9 cab ha⁻¹ (USDA, 2021). A grande área de pastagem recoberta, quase em monocultivo, em solos de baixa fertilidade aliado ao manejo inapropriado causa grande risco à pecuária brasileira (BURAK et al. 2021). A degradação das pastagens ocasiona uma queda acentuada na produtividade das pastagens e conseqüentemente a queda na produção de carne, além de ocasionar danos ambientais, com efeitos nos recursos hídricos e agravamento dos gases de efeito estufa (GEE) (MACEDO et al. 2013; BODDEY et al., 2020).

O uso de leguminosas forrageiras em consórcio pode ser uma alternativa aos adubos sintéticos. Estas plantas são reconhecidas pela sua relação simbiótica com bactérias fixadoras de N₂. No entanto, mesmo com os resultados positivos comprovados em pesquisa, a utilização do consórcio de gramíneas com leguminosas ainda é pouco utilizado. Muitos fatores tem contribuído para este fato. Geralmente, este fracasso na utilização de pastagens consorciadas é atribuído à falta de persistência das leguminosas nas pastagens, à exigência de melhor manejo que pastagens de gramíneas puras, à necessidade de solos mais férteis, à susceptibilidade a doenças provocadas por fungos e nematóides e, ainda, pela adaptação das leguminosas às regiões de estabelecimento (REIS JUNIOR et al. 2002).

A inoculação de estirpes nativas do solo, que são adaptadas às condições

edafoclimáticas do local pode ser mais eficiente que os inoculantes recomendados pelo MAPA para as leguminosas forrageiras do presente estudo e auxiliar no melhor estabelecimento e fornecimento de nitrogênio em sistemas de consórcio com pastagens. O objetivo deste trabalho foi isolar, caracterizar por meio de morfologia de colônia e determinar a diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas de nódulos radiculares de 3 espécies forrageiras tropicais: *Arachis pintoi*, *Desmodium heterocarpon* e *Macrotyloma axillare*.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de *Arachis pintoi* e *Desmodium heterocarpon* foram coletadas em áreas da Estação de Zootecnia da Ceplac, em Itabela, BA. E plantas de *M. axillare* foram coletadas em áreas do Instituto de Zootecnia da UFFRJ em Seropédica, RJ. As plantas foram acondicionadas em sacos plásticos com solo e conduzidas ao Laboratório de Ecologia Microbiana na Embrapa Agrobiologia, em Seropédica, RJ. Os nódulos foram destacados das raízes e desinfestados superficialmente de acordo com metodologia proposta por Vincent (1970) e em seguida 10 nódulos por espécie vegetal foram selecionados de forma aleatória e cada um foi pressionado em placas de pétri contendo meio YMA com vermelho congo (0,25%) com o objetivo de separar rizóbios de possíveis contaminantes. As placas foram incubadas em BOD a 28° C por 10 dias e as colônias que não absorveram o indicador foram transferidas para placas de pétri contendo meio YMA com Azul de Bromotimol (0,5% em 0,2 N de KOH: 5 ml) e pH 6,8 incubadas em BOD a 28° C por até 10 dias.

Após a purificação dos isolados, as características das colônias foram avaliadas conforme a metodologia proposta por Yano et al. (1993): 1. Tamanho (mm); 2. Características ópticas (translúcida e opaca); 3. Cor (branca, amarela); 4. Forma da colônia (circular ou irregular); 5. Elevação (plana, lente, convexa, pulvinada, umbonada ou umbilicada); 6. Borda (ondulada, lobada, denteada, filamentosa ou inteira); 7. Superfície (lisa, rugosa ou papilada); 8. Produção de muco (escasso, pouco, moderado e abundante); 9. Tempo de crescimento (rápido, até 3 dias ou lento, com 4 dias ou mais); alteração do pH do meio (ácido, alcalino ou neutro).

Para o agrupamento das características morfológicas das colônias bacterianas foi construída uma matriz binária dos dados originais, compreendendo as variações das características dos isolados. Para cada variação das características foram atribuídos os valores 1 ou 0, indicando presença ou ausência de determinada característica.

Os isolados foram comparados com base em suas semelhanças, estimadas pelo coeficiente de Jaccard, sendo o agrupamento destes realizado pelo método UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean). Foi então construído um dendrograma representando a similaridade intergrupos obtida pelo programa PAST (PAleontological STatistics), versão 2.17 c.

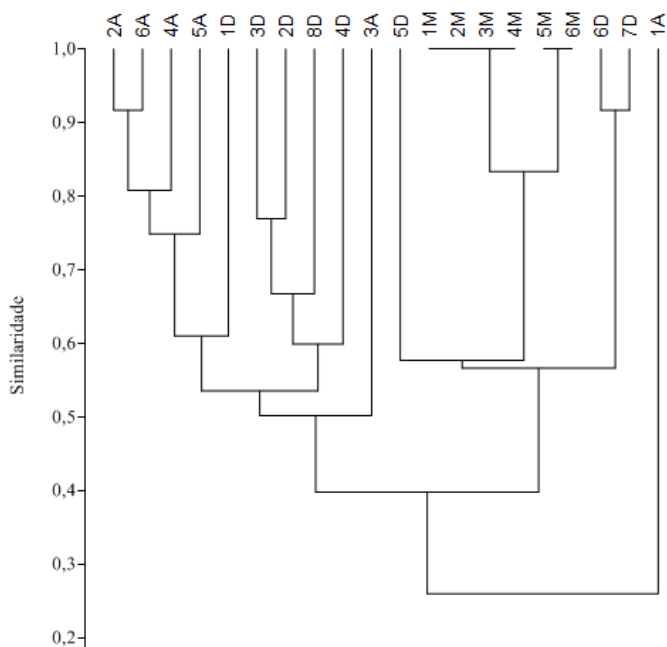
3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos um total de 20 isolados, sendo: 6 de *A. pintoi*, 8 de *D. heterocarpon* e 6 de *M. axillare*. De acordo com uma similaridade dos isolados de 70% foram formados 4 grupos (Figura 1.). E como mais dissimilares os isolados 1D, 8D, 4D, 5D, 3A e 1A.

Houve um tendência de agrupamento para os isolados oriundos de plantas de *M. axillare*, sendo observada mais de 80% de semelhança entre as colônias que apresentaram coloração branca, com colônias circulares ou irregulares e com elevação convexa e bordas lisas (Figura 1 e 2.) e 100% dos isolados alteraram o pH do meio de cultura YMA para alcalino.

Entre os isolados obtidos de plantas de *Arachis pintoi*, 67% dos apresentaram semelhança na morfologia das colônias (2A, 6A, 4A e 5A) com colônias de coloração branca ou amarela opacas, crescimento lento, com 2 a 4 mm de diâmetro, elevação plana, bordas lisas, sem a produção de muco e com a alteração do pH do meio para alcalino ou sem alteração. Enquanto que o isolado 1A apresentou colônias com coloração amarela e transparente, com 4 mm de diâmetro, abundante produção de muco e crescimento rápido da colônia e alteração do pH do meio YMA para ácido. O isolado 3A apresentou colônias brancas, circulares, com elevação planas, bordas onduladas e pontiformes (<1mm de diâmetro), crescimento lento, alteração do pH do meio YMA para ácido. Apenas metade dos isolados das plantas de *Desmodium heterocarpon* agruparam-se em função da similaridade morfocultural, o que indica uma heterogeneidade maior entre estes isolados, o que será confirmado após a caracterização genética dos isolados.

Os métodos fenotípicos de análise de características culturais de microrganismos possuem a vantagem de serem rápidos e baratos, permitindo uma análise prévia da diversidade de microrganismos isolados que poderão ser armazenados e usados posteriormente (SANTOS et al. 2007).



Figuras 1. Dendrograma de similaridade de 20 isolados oriundos de *A. pintoi* (A), *D. heterocarpon* (D), e *M. axillare* (M) a partir da caracterização morfocultural em meio de cultura YMA, utilizando análise de agrupamento por médias não ponderadas (UPGMA) e o índice de Jaccard como distância pelo programa estatístico PAST versão 2.17 c.

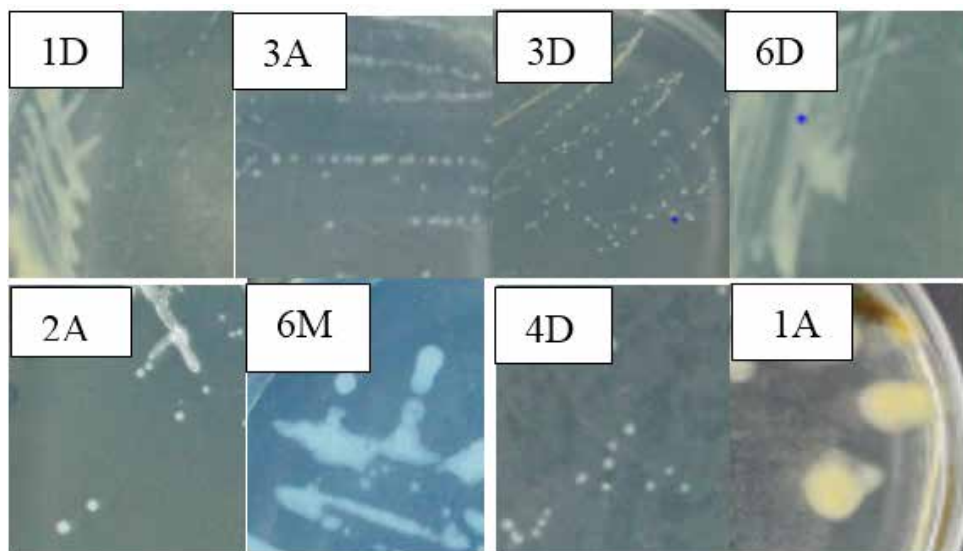


Figura 2. Aspecto morfocultural dos isolados bacterianos oriundos de *Arachis pintoi* (A), *Desmodium heterocarpon* (D) e *Macrotiloma axillare* (M).

4 | CONCLUSÕES

Foi obtido um total de 20 isolados que se agruparam dependentemente da espécie de planta utilizada.

Nas próximas etapas, os isolados serão caracterizados geneticamente e serão conduzidos ensaios com vaso Leonard para testar a eficiência simbiótica destes isolados quando comparados com as estirpes comerciais recomendadas pelo Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Espera-se, por meio destas atividades, identificar potenciais estirpes bacterianas para o desenvolvimento de inoculantes para *Arachis pintoi*, *Desmodium heterocarpon* e *Macrotyloma axillare*.

REFERÊNCIAS

BODDEY, R. M.; CASAGRANDE, D. R. ; HOMEM, B. G. C. ; ALVES, B. J. R. . Forage legumes in grass pastures in tropical Brazil and likely impacts on greenhouse gas emissions: A review. GRASS AND FORAGE SCIENCE, v. 1, p. 1, 2020.

BURAK, D. L. ; MONTEIRO, E.C; PASSOS, R. R. ; MENDONÇA, E.S. Soil quality index for extensive pastures in hilly landforms region of highly-weathered soils in the Atlantic forest biome, Brazil. AFRICAN JOURNAL OF RANGE & FORAGE SCIENCE, v. 38, p. 1-12, 2021. <https://doi.org/10.2989/10220119.2021.1885489>

MACEDO, M. C. M.; Zimmer, A. H.; Kichel, A. N.; de Almeida, R. G.; de Araújo, A. R. Degradação de pastagens, alternativas de recuperação e renovação e formas de mitigação. In: **Encontro de adubação de pastagens da scot consultoria-tec-fértil, Ribeirão Preto, SP. Anais**. Bebedouro: Scot Consultoria 1:158-181, 2013.

MONTEIRO, E. de C.; BURAK, D. L.; CUNHA, A. de M.; PASSOS, R. R.; MENDONÇA, E. de S. **Visual assessment of pasture degradation: Validation by ground cover and seasonal variation**. Revista Ciência Agronômica, v.49, p.174-182,2018.<https://doi.org/10.5935/1806-6690.20180020>

PAULINO, V. T.; PAULINO, T. S. Avanços no manejo de pastagens consorciadas. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, Ano II – 3 ed., n. 3, 2003.

REIS JUNIOR, F. B.; TEIXEIRA, K. R. S.; REIS, V. M. Fixação biológica de nitrogênio associada a pastagens de braquiária e outras gramíneas forrageiras. (Embrapa Cerrados. Documentos 52). Planaltina. 27p. 2002.

SANTOS, C.E.R.S; Neves, M. C.; Runjanek, N. G.; Borges, W. L.; Bezerra, R. V.; Freitas, A. D. Diversidade de rizóbios capazes de nodular leguminosas tropicais. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.2, n.2, p.249-256, 2007.

VICENT, J. M. A Manual for the practical study of root-nodule bacteria. Oxford: Blackwell Scientific, 1970. 164 p. (IBP Handbook, no 15).

YANO, D.M.Y.; FARRIS, M.G.; UMINO, C.Y.; COUTINHO, H.L.C. & CANHOS, V.P. Técnicas para cultivo, identificação e preservação de bactérias, Campinas, Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”, 1993. 64p.

CAPSAICINA COMO UMA MOLÉCULA BIOATIVA PROMISSORA CONTRA MICRO-ORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA MÉDICA E AGRÍCOLA: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Data de aceite: 01/09/2021

Data de submissão: 03/08/2021

Maria Gabriela Ferreira

Instituto de Biologia, Universidade Federal de
Uberlândia (UFU)
Uberlândia, Minas Gerais, Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-9636-6327>

Meliza Arantes de Souza Bessa

Programa de Pós-graduação em Imunologia e
Parasitologia Aplicadas, Instituto de Ciências
Biomédicas, UFU
Uberlândia, Minas Gerais, Brasil
<https://orcid.org/0000-0003-3120-1799>

Ralciane de Paula Menezes

Curso Técnico em análises Clínicas, Escola
Técnica de Saúde, UFU
Uberlândia, Minas Gerais, Brasil
<https://orcid.org/0000-0001-8499-9090>

RESUMO: Introdução: o aumento de infecções por micro-organismos multidroga resistentes é considerado um problema de saúde pública mundial. Diante das limitações dos antimicrobianos disponíveis para tratamento, observa-se uma busca crescente por compostos naturais com potencial antimicrobiano. Nesse sentido, a capsaicina, principal molécula de pimentas do gênero *Capsicum*, vem sendo cada vez mais explorada. **Objetivos:** realizar um levantamento bibliográfico de trabalhos que avaliaram a ação antimicrobiana da capsaicina, bem como discutir seu potencial como agente

antimicrobiano. **Metodologia:** foi feita uma revisão integrativa da literatura nas plataformas digitais Pub Med e SciELO de artigos avaliaram a atividade antimicrobiana da capsaicina, resultando em 24 manuscritos publicados entre 1999 e 2021. **Resultados:** a maioria dos estudos avaliou a ação antimicrobiana da capsaicina frente a bactérias Gram negativas. Cerca de 83,3% das pesquisas foram desenvolvidas com capsaicina de origem comercial e a metodologia mais utilizada foi microdiluição em caldo. As melhores atividades antimicrobianas encontradas foram contra *Verticillium dahliae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida tropicalis*. **Conclusão:** Foi demonstrado que capsaicina tem ação antimicrobiana frente a patógenos importantes. Faz-se necessário estudos que avaliem a ação *in vivo* e toxicidade a fim de considerá-la como uma potencial molécula contra patógenos importantes, a fim de minimizar as taxas de mortalidade e os prejuízos para saúde, economia e agricultura.

PALAVRAS-CHAVE: Antimicrobiano. Capsaicina. Bactérias Gram positivas. Bactérias Gram negativas. Fungos.

CAPSAICIN AS A PROMISING BIOACTIVE MOLECULE AGAINST HUMAN AND AGRICULTURAL PATHOGENS: A LITERATURE REVIEW

ABSTRACT: Introduction: the increase in infections caused by multidrug resistant microorganisms is a global public health problem. There is a growing search for natural compounds with antimicrobial potential due to limitations of antimicrobials available. Therefore, capsaicin, the

main molecule of peppers of the *Capsicum* genus, has been increasingly studied. **Objectives:** to carry out a bibliographical survey of works that evaluated the antimicrobial action of capsaicin, as well as to discuss its potential as an antimicrobial agent. **Methodology:** an integrative literature review was carried out on the Pub Med and SciELO digital platforms of articles evaluating the antimicrobial activity of capsaicin, resulting in 24 manuscripts published from 1999 to 2021. **Results:** most studies evaluated the antimicrobial action of capsaicin against Gram negative bacteria. About 83.3% of the researches were developed with capsaicin of commercial origin and the most used methodology was microdilution in broth. The best antimicrobial activities were against *Verticillium dahliae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida tropicalis*. **Conclusion:** Capsaicin shown an antimicrobial action against important pathogens. News studies that evaluate the in vivo action and toxicity are necessary in order to consider it as a potential molecule against important pathogens, and consequently, minimize mortality rates and damage to health, economy and agriculture. **KEYWORDS:** Antimicrobial. Capsaicin. Gram positive bacteria. Gram negative bacteria. Fungi.

1 | INTRODUÇÃO

A resistência antimicrobiana faz parte do processo evolutivo dos micro-organismos e pode ser denominada como algo natural com o passar dos tempos (OLIVEIRA et al., 2019), porém, o uso indiscriminado de antimicrobianos tem contribuído com o surgimento cada vez mais rápido de isolados resistentes, bem como novos mecanismos de resistência. Como consequência, a escassez de medicamentos eficazes para o tratamento de infecções já é uma realidade que merece atenção em todo o mundo (CHRISTAKI; MARCOU; TOFARIDES 2019). Diante disso, observa-se uma busca constante da medicina e indústria farmacêutica por novas opções terapêuticas eficazes para o tratamento de infecções (PRASCH et al., 2018).

Nesse sentido, pesquisas que avaliam a ação antimicrobiana de compostos naturais têm ganhado destaque nos últimos anos, por representarem uma promissora fonte de moléculas ativas e com boa ação contra micro-organismos importantes (LAWAL et al., 2018). Isso, porque, esses compostos geralmente são menos tóxicos e apresentam boa biodegradabilidade (NIKOLIC et al., 2017; WANG et al., 2020).

Muitas dessas pesquisas utilizam compostos com alguma ação medicinal conhecida, seja ela analgésica, anti-inflamatória, antioxidante, calmante, dentre outras (BOUFRID; QUINN, 2018). Nesse contexto, observa-se um número crescente de trabalhos que buscam avaliar a ação antimicrobiana de moléculas extraídas de diversos tipos de pimenta, com destaque para capsaicina (AKYUZ et al., 2018; KOLLIA et al., 2019).

A capsaicina é um alcaloide encontrado em maior quantidade nas pimentas do gênero *Capsicum*, sendo este responsável pela pungência marcante desses frutos (BAENAS et al., 2018). Além disso, sabe-se que a capsaicina possui diversas propriedades medicinais, tais como: analgésica, anti-inflamatória, antitumoral, além de auxiliar no controle de síndromes

metabólicas importantes como o diabetes (UARROTA et al., 2020). Além desses benefícios, estudos sugerem que a capsaicina também pode apresentar uma ação antimicrobiana interessante (FUCHTBAUER et al., 2021).

Diante do número cada vez maior de infecções por micro-organismos resistentes, do potencial antimicrobiano da capsaicina e visando reunir informações que possam nortear pesquisas que utilizem a capsaicina como uma molécula antimicrobiana, propomos a realização desta revisão integrativa da literatura com o objetivo elencar e reunir artigos que avaliaram a ação antimicrobiana da capsaicina, bem como discutir seu potencial como agente antimicrobiano e listar frente a quais isolados essa molécula foi mais efetiva.

2 | METODOLOGIA

Este trabalho utilizou como método a revisão integrativa de literatura para busca e avaliação dos artigos sobre o tema proposto. A realização deste estudo foi feita em seis etapas: A) Estabelecimento da questão norteadora e dos objetivos; B) Definição dos critérios de inclusão e exclusão das publicações; C) Busca ou amostragem na literatura; D) Coleta de dados dos artigos; E) Avaliação e categorização dos estudos; F) discussão dos resultados e apresentação da revisão integrativa (MENDES; SILVEIRA; GALVÃO, 2008; SOUZA; SILVA; CARVALHO, 2010).

O levantamento bibliográfico de artigos que abordam a ação antimicrobiana da capsaicina foi feito entre junho de 2020 a abril de 2021, utilizando as bases de dados PubMed e Scientific Eletronic Library Online (SciELO).

A pergunta norteadora deste estudo foi: a molécula capsaicina possui atividade antimicrobiana contra micro-organismos potencialmente patogênicos ao homem, animais e plantas?

Os descritores utilizados na pesquisa foram elencados a partir de uma busca nas bases de dados Lilacs e Descritores em Ciências e Saúde (Decs), sendo: capsaicin and bacterial, capsaicin and yeast, capsaicin and fungal, capsaicin and antibacterial, capsaicin and antifungal, capsaicin and Gram positive, capsaicin and Gram negative e capsaicin antimicrobial activity.

Foram incluídos na avaliação inicial artigos disponíveis na íntegra. Para identificação dos artigos elegíveis, os textos completos foram analisados e ordenados pelo título. Em seguida, procedeu-se a leitura dos mesmos para exclusão dos duplicados. Para identificar se os artigos possuíam relação direta com o tema estudado, foi realizada a análise dos títulos e resumos. O mapeamento dos artigos elegíveis foi realizado por meio de uma planilha no programa Microsoft Excel®, a qual abrangia informações referentes a caracterização da produção (ano de publicação, periódico e estruturação do estudo) e metodologia utilizada.

Foram selecionados para leitura completa manuscritos escritos em português (Brasil), inglês ou espanhol, que avaliaram a ação antimicrobiana da capsaicina através de

ensaios *in vitro* e/ou *in vivo*, seguindo os protocolos estabelecidos pelo Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) e European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).

A busca resultou em 2.502 artigos publicados entre 1996 e 2021, dos quais 24 obedeceram aos critérios de elegibilidade (Figura 1).

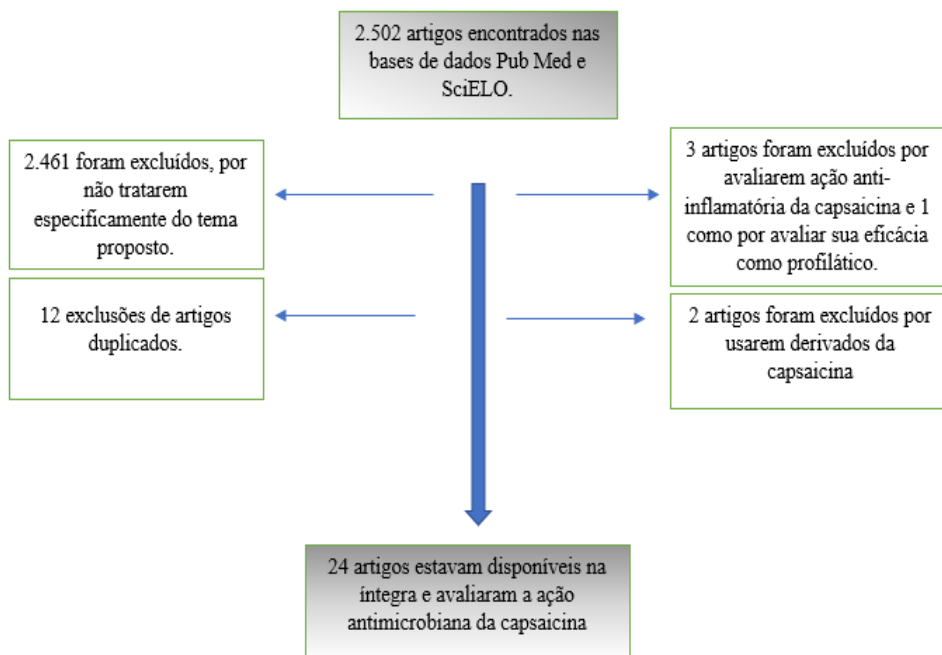


Figura 1: Fluxograma da elegibilidade dos artigos obtidos das bases de dados Pub Med e SciELO incluídos no estudo após aplicação de todos os critérios de inclusão e exclusão.

3 | RESULTADOS

Os artigos incluídos nesta revisão foram publicados entre 1999 e 2021, em sua maioria em revistas na área de tecnologia de alimentos (4), microbiologia (2), botânica (2), doenças infecciosas (2) etino farmacologia (2), fito medicina (2), química (2). Um pequeno número de artigos foi publicado em periódicos sobre agricultura (1), antimicrobianos (1), biomateriais (1), biomoléculas (1), farmácia (1), macromoléculas naturais (1), medicina natural (1) e produtos naturais (1).

Pouco mais de 95% dos artigos foram publicados em inglês e uma pequena parcela em espanhol (4.1%). A maioria dos estudos foi realizado no Brasil (5), seguido por México (4), China (3), Turquia (2), Albânia (1) Argélia (1), Áustria (1), Espanha (1) Grécia (1), Índia (1), Irã (1), Itália (1), Japão (1) e Reino Unido (1). A Tabela 1 apresenta os dados de publicação dos artigos incluídos nesta revisão.

Título	Revista	Idioma	País	Ano	Referência
Antimicrobial properties of alkamides present in flavouring plants traditionally used in Mesoamerica: affinin and capsaicina	Journal of Ethnopharmacology	Inglês	México	1999	Molina-Torres, Chávez e Chávez.
Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids	Pharmaceutical Biology	Inglês	Turquia	2011	Özçelik, Kartal e Orhan
Capsaicin, a novel inhibitor of the NorA efflux pump, reduces the intracellular invasion of <i>Staphylococcus aureus</i>	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	Inglês	Índia	2012	Kalia et al.
Antifungal effects of capsaicin and chile piquin extracts (<i>Capsicum annuum</i> l. var. <i>aviculare</i>) in vitro on <i>aspergillus flavus</i> growth	Polibotânica	Espanhol	México	2012	Limón et al.
Antibacterial activity of <i>Capsicum annuum</i> extract and synthetic capsaicinoid derivatives against <i>Streptococcus mutans</i>	Journal of Natural Medicines	Inglês	Brasil	2012	Santos et al.
Properties of capsaicinoids for the control of fungi and oomycetes pathogenic to pepper	Plant Biology	Inglês	Espanha	2013	Veloso et al.
In vitro and in vivo antifungal activity of natural inhibitors against <i>Penicillium expansum</i>	Ciência e Tecnologia de Alimentos	Inglês	Brasil	2013	Fieira et al.
Capsaicin inhibits <i>Porphyromonas gingivalis</i> growth, biofilm formation, gingivomucosal inflammatory cytokine secretion, and in vitro osteoclastogenesis.	European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases	Inglês	China	2014	Zhou et al.
Quantification, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Phenolics Isolated from Different Extracts of <i>Capsicum frutescens</i> (Pimenta Malagueta)	Molecules	Inglês	Brasil	2014	Nascimento et al.
Antimicrobial and Anti-Virulence Activity of Capsaicin Against Erythromycin-Resistant, Cell-Invasive Group A Streptococci	Frontiers in Microbiology	Inglês	Itália	2015	Marini et al.
Antimicrobial Activity of Selected Polyphenols and Capsaicinoids Identified in Pepper (<i>Capsicum annuum</i> L.) and Their Possible Mode of Interaction	Current Microbiology	Inglês	Algeria	2017	Mokhtar et al.
Impact of capsaicin, an active component of chili pepper, on pathogenic chlamydial growth (<i>Chlamydia trachomatis</i> and <i>Chlamydia pneumoniae</i>) in immortal human epithelial HeLa cells	Journal of Infection and Chemotherapy	Inglês	Japão	2017	Yamakawa et al.3
Supplementing capsaicin with chitosan-based films enhanced the anti-quorum sensing, antimicrobial, antioxidant, transparency, elasticity and hydrophobicity	International Journal of Biologicals Macromolecules	Inglês	Turquia	2018	Akyuz et al.
GC-EIMS analysis, antifungal and anti-aflatoxigenic activity of <i>Capsicum chinense</i> and <i>Piper nigrum</i> fruits and their bioactive compounds capsaicin and piperine upon <i>Aspergillus parasiticus</i>	Natural Product Research	Inglês	México	2018	Cantúa et al.

Resistance modulatory and efflux-inhibitory activities of capsaicinoids and capsinoids	Bioorganic Chemistry	Inglês	Espanha	2018	Prasch et al.
Capsaicin inhibitory effects on <i>Vibrio cholerae</i> toxin genes expression	Avicenna Journal of Phytomedicine	Inglês	Irã	2019	Erfanimanesh et al.
Capsaicin, an inhibitor of Ochratoxin A production by <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> strains in grapes (<i>Vitis vinifera</i> L.)	Food Additives & Contaminants: Part A	Inglês	Grécia	2019	Kollia et al.
Capsaicin and gingerol analogues inhibit the growth of efflux-multidrug resistant bacteria and R-plasmids conjugal transfer	Journal of Ethnopharmacology	Inglês	Reino Unido	2019	Oyedemi, Stapleton e Gibbons.
Effect of <i>Capsicum Frutescens</i> Extract, Capsaicin, and Luteolin on Quorum Sensing Regulated Phenotypes	Journal of Food Science	Inglês	Brasil	2019	Rivera et al.
Anti-Fouling and Anti-Bacterial Modification of Poly (vinylidene fluoride) Membrane by Blending with the Capsaicin-Based Copolymer	Polymers	Inglês	China	2019	Shen et al.
Unravelling the effects of the food components ascorbic acid and capsaicin as a novel anti-biofilm agent against <i>Escherichia coli</i>	Journal of Food Science and Technology	Inglês	Brasil	2019	Silva et al.
Inhibitory effect of <i>Capsicum chinense</i> and <i>Piper nigrum</i> fruits, capsaicin and piperine on aflatoxins production in <i>Aspergillus parasiticus</i> by downregulating the expression of <i>affD</i> , <i>affM</i> , <i>affR</i> , and <i>affS</i> genes of aflatoxins biosynthetic pathway	Journal of Environmental Science and Health, Part B	Inglês	México	2020	Cantúa et al.
Capsaicin derivatives with nitrothiophene substituents: Design, synthesis and antibacterial activity against multidrug-resistant <i>S. aureus</i>	European Journal of Medicinal Chemistry	Inglês	China	2020	Wang et al.
Evaluation of In Vitro Capsaicin Release and Antimicrobial Properties of Topical Pharmaceutical Formulation	Biomolecules	Inglês	Albania	2021	Goci et al.

Tabela 1: Informações sobre os artigos incluídos nesta revisão.

No total, a ação antimicrobiana da capsaicina foi avaliada frente a 27 espécies de micro-organismos, sendo a maioria bactérias Gram negativas (13), com destaque para *Escherichia coli*, seguido por espécies fúngicas (9), sendo *Aspergillus* o gênero mais frequente nos estudos, e bactérias Gram positivas (7), sendo *Staphylococcus aureus* a espécie mais frequente. A Tabela 2 apresenta os micro-organismos que foram incluídos em cada estudo, bem como a origem dos isolados.

Do total de artigos incluídos nesta revisão, 63% verificaram a ação antimicrobiana da capsaicina frente a cepas de referência de diferentes espécies, 23,8% utilizaram isolados clínicos e 14,2% espécies fitopatogênicas. Os artigos que apresentaram resultados promissores na avaliação da atividade antimicrobiana da capsaicina são apresentados na Tabela 3.

Em relação a origem da capsaicina utilizada nos artigos incluídos nesta revisão,

verificamos que a maioria (83,3%) foi de origem comercial e apenas três trabalhos (12,5%) utilizaram a capsaicina isolada pelos próprios autores, sendo que dois artigos utilizaram a capsaicina extraída da espécie *Capsicum frutescens* e um da espécie *Capsicum annum*. Somente um artigo (4,2%) não relatou a origem do composto utilizado nos testes.

Sobre as metodologias utilizadas para avaliar a ação antimicrobiana da capsaicina, verificamos que 66,6% dos estudos trabalharam com a microdiluição, 25% com disco de difusão, 4,2% com macrodiluição e 4,2% ensaios com células para micro-organismos intracelulares.

Microrganismo	Isolamento	Referência
<i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas solanacearum</i> , <i>Bacillus subtilis</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Cepa padrão (ATCC)	Molina-Torres, Chávez e Chávez 1998
<i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i>	Cepa padrão (ATCC)	Özçelik, Kartal e Orhan, 2011
<i>S. aureus</i>	Cepa padrão (ATCC)	Kalia et al., 2012
<i>Aspergillus flavus</i>	Isolado de campo	Limón et al. 2012
<i>Streptococcus mutans</i>	Cepa padrão (ATCC)	Santos et al. 2011
<i>Verticillium dahliae</i> , <i>V. tricorpus</i> <i>Botrytis cinérea</i> , <i>Rhizoctonia solan</i>	Isolado clínico	Veloso et al. 2012
<i>Penicillium expansum</i>	Isolado de campo	Fieira et al. 2013
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Cepa padrão (ATCC)	Zhou et al. 2013
<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>C. albicans</i>	Cepa padrão (ATCC)	Nascimento et al. 2014
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Isolado clínico	Maríni et al. 2015
<i>Listeria monocytogenes</i> <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Bifidobacterium animalis sbsp lactis Bb12</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. plantarum</i>	Cepa padrão ATCC e isolado clínico	Mokhtar et al. 2017
<i>Chlamydia trachomatis</i> e <i>K. pneumoniae</i>	Cepa padrão ATCC e isolado clínico	Yamakawa et al. 2017
<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. microbilis</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>B. thuringiensis</i> , <i>S. enterica typhimurium</i> , <i>S. mutans</i>	Cepa padrão e ATCC	Akyuz et al. 2018
<i>A. parasiticus</i>	Cepa padrão ATCC	Cantúa et al. 2018
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Cepa padrão ATCC	Prasch et al. 2018
<i>Vibrio cholerae</i>	Cepa padrão ATCC	Erfanimanesh et al. 2019
<i>A. carbonarius</i> , <i>A. section Nigri</i>	Isolado de campo	Kollia et al. 2019
<i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Proteus sp.</i>	Isolado clínico	Oyedemi, Stapleton e Gibbons. 2019

<i>Chromobacterium violaceum</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Cepa padrão	Rivera et al. 2019
<i>S. aureus</i>	Cepa padrão (ATCC)	Shen et al. 2019
<i>E. coli</i>	Cepa padro (ATCC)	Silva et al. 2020
<i>A. parasiticus</i>	Cepa padrão (ATCC)	Cantúa et al. 2020
<i>S. aureus</i>	Cepa padrão	Wang et al. 2020
<i>E. coli</i> , <i>B. cereus</i> , <i>S. typhi</i> , <i>S. aureus</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. krusei</i> .	Cepa padrão (ATCC)	Goci et al. 2021

Tabela 2: Micro-organismos avaliados nos artigos incluídos nesta revisão.

Microorganismo	Isolamento	Metodologia	Diluyente usado	Melhor atividade Antimicrobiana	Capsaicina	Referência
<i>S. aureus</i>	Cepa padrão	Microdiluição	Dimetil sulfoxido	1.2µg/ml.	Isolada	Nascimento et al., 2014
<i>E. coli</i>	Cepa padrão	Microdiluição	-	7 mM.	Comercial	Silva et al., 2020
<i>C. tropicalis</i>	Cepa padrão	Microdiluição	Etanol	3,968µg/mL.	Isolada	Goci et al., 2021
<i>V. dahliae</i>	Isolado de plantas	Inibição do crescimento radial	Metanol	0,25 mM.	Comercial	Veloso et al., 2012

Tabela 3- artigos que apresentaram resultados promissores na avaliação da atividade antimicrobiana da capsaicina.

4 | DISCUSSÃO

A resistência a antimicrobianos é um problema de saúde pública mundial, pois reduz consideravelmente as opções de antimicrobianos disponíveis para o tratamento de infecções em humanos, animais e plantas, causando prejuízos à saúde, ao agronegócio e a economia (DODDS, 2016). Diante disso, tem-se observado um aumento significativo de pesquisas buscando compostos naturais que apresentem ação antimicrobiana, especialmente na última década (OTUNOLA et al., 2016; ROMULO et al., 2018; LEJA et al., 2020). Fato este confirmado por esta revisão, cuja maioria dos artigos que avaliaram ação da capsaicina foram publicados nos últimos 10 anos, sendo o ano de 2019 o que teve a maior quantidade de publicações (25%).

Muitos desses compostos naturais já possuem outras ações farmacológicas conhecidas como é o caso da capsaicina (ADASZEK et al., 2018). Esta revisão de literatura apresenta artigos que indicam que a capsaicina pode ser uma aposta promissora no combate a micro-organismos patogênicos.

Esta revisão aponta algumas diferenças metodológicas e de resultados entre os trabalhos que avaliaram ação antimicrobiana da capsaicina ao longo dos anos. Molina-Torres, Chavez e Chavez (1998) utilizaram a metodologia de macrodiluição e a versão da capsaicina utilizada foi a comercial. Os valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) neste estudo variaram de 200 a 300 µg/mL para os micro-organismos como *E. coli*, *P.*

solanacearum, *B. subtilis* e *S. cerevisiae*. Já em trabalhos mais recentes, como o de Goci et al. (2021), a metodologia utilizada foi a microdiluição em caldo e a capsaicina utilizada nos testes foi isolada da pimenta *Capsicum annuum*. As CIM encontradas foram relativamente baixas, ficando entre 0,312 e 10 µg/mL para isolados de *E. coli*, *B. cereus*, *Salmonella typhi*, *S. aureus*, *C. tropicalis*, *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*.

Essa diferença de resultados entre os estudos pode ser justificada pela origem e pureza da capsaicina utilizada. Isso, porque, Molina-Torres e colaboradores (1998) utilizaram capsaicina comercial, cujo grau de pureza foi de 74,63%, ao passo que Goci e colaboradores (2021) avaliaram ação da capsaicina que eles extraíram do fruto. O fato de Molina-Torres e colaboradores (1998) não utilizarem uma capsaicina com pureza maior pode ter influenciado nos valores de CIM maiores do que aqueles encontrados por Goci et al. (2021).

Avaliando os resultados dos artigos por grupo de micro-organismos, verificamos que a capsaicina se mostrou promissora contra bactérias Gram positivas, com destaque para a espécie *S. aureus*, já que a CIM encontrada no estudo de Nascimento et al., (2014) foi de 1,2µg/mL. Espécies de bactérias Gram positivas são as principais responsáveis pelas Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS), estando relacionadas a elevadas taxas de mortalidade (INAGAKI et al., 2019). Além disso, o aumento de infecções por isolados resistentes, como *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA), já é uma realidade em hospitais do mundo todo, dificultado o tratamento e aumentando as taxas de morbimortalidade (HORVÁTH et al., 2020). Diante disso, moléculas de origem natural com boa ação contra micro-organismos importantes no âmbito hospitalar trazem novas perspectivas para o tratamento de infecções.

Já Silva et al. (2019), através da técnica de microdiluição em caldo, verificaram uma boa ação antimicrobiana da capsaicina frente ao isolado clínico *E. coli*, cujo valor da CIM foi 7mM. Bactérias Gram negativas como *E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*, são conhecidas por apresentarem resistência a diversos fármacos como os betalactâmicos e carbapenêmicos (KAYE; POGUE., 2015; MOKHTAR et al., 2017). Contudo, a ação da capsaicina contra a cepa de referência de *E. coli* apresentou um bom resultado, indicando que essa molécula é um dos poucos compostos naturais (RIBEIRO et al., 2018) que apresentaram ação antimicrobiana frente a isolados de *E. coli*. Logo, faz-se necessários mais estudos com um número maior de isolados, incluindo aqueles provenientes de amostras clínicas, para confirmar o potencial antimicrobiano da capsaicina contra esse micro-organismo e qual o seu provável mecanismo de ação.

Em relação aos estudos que avaliaram a ação antimicrobiana da capsaicina frente a patógenos agrícolas, o trabalho de Veloso et. al (2014) encontrou o menor valor de CIM para o fungo *Verticillium dahliae*, (0,25 mM). Essa espécie fúngica pode acometer e destruir plantações inteiras de milho ou algodão, levando a grandes perdas agrícolas e prejuízos econômicos (ZHANG et al., 2020). É possível dizer que os resultados deste

estudo são promissores, pois a capsaicina além de se mostrar eficaz, é uma molécula com boa biodegradabilidade, sendo popularmente conhecida na cozinha de todo o mundo. Além disso, em comparação aos agrotóxicos convencionais, e baseado nos estudos já existentes, a capsaicina é benéfica à saúde humana (ADASZEK et al., 2018), podendo levar a diminuição do uso de aditivos químicos para o combate de pragas agrícolas.

Poucos são os estudos que avaliam ação antimicrobiana de produtos naturais frente a espécies de *Candida* (CORREIA et al., 2016; LAVAEE et al., 2018). Entretanto, tem se observado o surgimento de isolados resistentes as poucas classes de antifúngicos disponíveis para o tratamento de infecções, a exemplo da *C. auris* (DU et al., 2020). Nesta revisão, 25% dos artigos avaliaram a ação da capsaicina contra *Candida* spp., com destaque para o estudo de Goci et al., (2021), que utilizando a capsaicina isolada da pimenta *C. annuum*, encontrou um valor de CIM de 3968 µg/mL frente a isolados de *Candida tropicalis*. *C. tropicalis* é a segunda espécie não-*albicans* responsável por candidíase invasiva e acomete principalmente pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) com o sistema imunológico comprometido, apresentando maior prevalência na Ásia e na América Latina (OLIVEIRA et al., 2020).

Por fim, apesar da confirmação da ação antimicrobiana da capsaicina frente a diferentes patógenos, nenhum dos artigos incluídos nesta revisão determinaram o mecanismo de ação da molécula. Porém, acredita-se que a capsaicina provoque lise da parede celular e conseqüente morte celular (DORANTES et al., 2000). Entretanto, estudos são necessários para comprovar essa via de ação ou outra mais efetiva.

5 | CONCLUSÃO

Os resultados desta revisão mostram que a capsaicina se apresenta como uma promissora molécula com ação antimicrobiana contra micro-organismos importantes no ambiente hospitalar e para produção agrícola. Assim, faz-se necessário estudos que avaliem a ação *in vivo*, bem como sua toxicidade nas concentrações que inibiram o crescimento de micro-organismos, a fim de considerá-la como um possível fármaco para tratamento de infecções em humanos, animais e em plantações, minimizando as taxas de mortalidade e os prejuízos econômicos para o sistema de saúde e agronegócio.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Universidade Federal de Uberlândia pela bolsa de Iniciação Científica concedida à Maria Gabriela Ferreira. Agradecemos também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela disponibilidade das bases de dados para busca de artigos científicos (Código de Financiamento 001).

REFERÊNCIAS

- ADASZEK, L. et al. **Properties of capsaicin and its utility in veterinary and human medicine.** *Res Vet Sci*, v. 123, p. 14-19, 2019.
- AKYUZ, L et al. **Supplementing capsaicin with chitosan-based films enhanced the anti-quorum sensing, antimicrobial, antioxidant, transparency, elasticity and hydrophobicity.** *Int J Biol Macromol*, v. 115, p. 438-446 (2018).
- BAENAS, N et al. **Industrial use of pepper (*Capsicum annum* L.) derived products: Technological benefits and biological advantages.** *Food Chem*, v. 274, p. 872-885, 2019.
- BOUFRIDI, A; QUINN, R. J. **Harnessing the properties of natural products.** *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, v.58, p. 451-470, 2018.
- BUITIMEA-CANTÚA, G. V. **GC-EIMS analysis, antifungal and anti-aflatoxic activity of *Capsicum chinense* and *Piper nigrum* fruits and their bioactive compounds capsaicin and piperine upon *Aspergillus parasiticus*.** *Nat Prod Res*, v. 34 n.10, p. 1452-1455, 2018.
- BUITIMEA-CANTÚA et al. **Inhibitory effect of *Capsicum chinense* and *Piper nigrum* fruits, capsaicin and piperine on aflatoxins production in *Aspergillus parasiticus* by downregulating the expression of *afl D*, *afl M*, *afl R*, and *afl S* genes of aflatoxins biosynthetic pathway.** *J Environ Sci Health B*, v. 55, n. 9, p. 835-843, 2020.
- CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard—Ninth Edition.** CLSI document M07-A10, 2018.
- CORREIA, A. F., et al. **Activity of crude extracts from Brazilian cerrado plants against clinically relevant *Candida* species.** *BMC Complement Altern Med*, v. 16, n. 1, p. 1-9, 2016.
- Christaki, E; Marcou, M; Tofarides, A. **Antimicrobial resistance in bacteria: mechanisms, evolution, and persistence.** *J Mol Evol*, v. 88, n. 1, p. 26-40, 2020.
- DODDS, D. R. **Antibiotic resistance: A current epilogue.** *Biochem Pharmacol*, v. 134, p. 139-146, 2017.
- DORANTES L., S., **Inhibition of growth of some foodborne pathogenic bacteria by *Capsicum annum* extracts,** *Int J Food Microbiol*, v. 57, n. 1, p. 125-128, 2000
- DU, H., et al. **Candida auris: Epidemiology, biology, antifungal resistance, and virulence.** *PLoS Pathog*, v. 16, n.10, p. 1-18, 2020.
- ERFANIMANESH, S., et al. **Capsaicin inhibitory effects on *Vibrio cholerae* toxin genes expression.** *Avicenna Journal of Phytomedicine*, v. 9, n.3, p. 187-194, 2019.
- FIEIRA, C. et al. **In vitro and in vivo antifungal activity of natural inhibitors against *Penicillium expansum*.** *Food Sci Technol*, n. 33, p. 40-46, 2013.
- FÜCHTBAUER, S., et al. **Antibacterial properties of capsaicin and its derivatives and their potential to fight antibiotic resistance—A literature survey.** *Eur J Microbiol Immunol*, v. 11 n. 1, p. 10-17, 2021.

GOCI, E. et al. **Evaluation of In Vitro Capsaicin Release and Antimicrobial Properties of Topical Pharmaceutical Formulation.** *Biomolecules*, v. 11 n. 3, p. 1-10, 2021.

HORVÁTH, A., et al. **Characterisation of antibiotic resistance, virulence, clonality and mortality in MRSA and MSSA bloodstream infections at a tertiary-level hospital in Hungary: A 6-year retrospective study.** *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, v. 19, n. 1, p. 1-11, 2020.

INAGAKI, K., et al. **Methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia: nationwide estimates of 30-day readmission, in-hospital mortality, length of stay, and cost in the United States.** *Clin Infect Dis*, v. 69, n. 12, p. 2112-2118, 2019.

KALIA, N. P et al. **Capsaicin, a novel inhibitor of the NorA efflux pump, reduces the intracellular invasion of *Staphylococcus aureus*.** *J Antimicrob Chemother*, v. 67, n. 10, p. 2401-2408, 2012.

KAYE, K. S., POGUE, J. M. **Infections caused by resistant Gram-negative bacteria: epidemiology and management.** *Pharmacotherapy: Pharmacotherapy*, v.35, n. 10, p. 949-962, 2015.

KOLLIA, E., et al. **Capsaicin, an inhibitor of Ochratoxin A production by *Aspergillus* section *Nigri* strains in grapes (*Vitis vinifera* L.).** *Food Addit Contam Part A*, v. 36, n. 11, p. 1709-1721, 2019.

LAVAE, F et al. **Antifungal effect of the bark and root extracts of *Punica granatum* on oral *Candida* isolates.** *Curr Med Mycol.*, v. 4, n. 4, p. 20-24, 2018.

LAWAL, T. O. et al. **Natural products and traditional medicines for the treatment of multidrug resistant bacteria.** *Med Res Arch*, v. 1, p. 1-22, 2018.

LEJA, K., et al. **Comparative evaluation of *Piper nigrum*, *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus* and *Juniperus communis* L. essential oils of different origin as functional antimicrobials in foods.** *Foods*, v. 9, n. 2, p. 141-148, 2020.

MARINI, E., et al. **Antimicrobial and anti-virulence activity of capsaicin against erythromycin-resistant, cell-invasive group a streptococci.** *Front Microbiol*, v. 6, p. 1-7, 2015.

MENDES, K. D. S., SILVEIRA, R. C. D. C. P., GALVÃO, C. M. **Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de evidências na saúde e na enfermagem.** *Texto & contexto-enfermagem*, v. 17, p. 758-764, 2008.

MORENO-LIMÓN, S., et al. **Efecto antifúngico de capsaicina y extractos de chile piquín (*Capsicum annuum* l. var *aviculare*) sobre el crecimiento *in vitro* de *Aspergillus flavus*.** *Polibotánica*, v. 34, p. 191-204, 2012.

MOKHTAR, M., et al. **Antimicrobial activity of selected polyphenols and capsaicinoids identified in pepper (*Capsicum annuum* L.) and their possible mode of interaction.** *Curr Microbiol*, v. 74, n. 11, p. 1253-1260, 2017.

MOLINA-TORRES, J; CHÁVEZ G. A; RAMÍREZ-CHÁVEZ, R. E. **Antimicrobial properties of alkamides present in flavouring plants traditionally used in Mesoamerica: affinin and capsaicin.** *J Ethnopharmacol*, v. 64, n. 3, p. 241-248, 1999.

- NASCIMENTO, P. L. et al. **Quantification, antioxidant and antimicrobial activity of phenolics isolated from different extracts of *Capsicum frutescens* (Pimenta Malagueta).** *Molecules*, v. 19, n. 4, p. 5434-5447, 2014.
- NIKOLIĆ, M. M., et al. **Antimicrobial synergism and cytotoxic properties of *Citrus limon* L., *Piper nigrum* L. and *Melaleuca alternifolia* (Maiden and Betche) Cheel essential oils.** *J Pharm Pharmacol*, v.69, n. 11, p. 1606-1614, 2017.
- OLIVEIRA, P. M. N. et al. **Surveillance of multidrug-resistant bacteria in pediatric and neonatal intensive care units in Rio de Janeiro State, Brazil.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 52, 2019.
- OLIVEIRA, J. S. D. et al. **The yeast, the antifungal, and the wardrobe: a journey into antifungal resistance mechanisms of *Candida tropicalis*.** *Can J Microbiol*, v. 66 n. 6, p. 377-388, 2020.
- OTUNOLA, G. A., et al. **Characterization, antibacterial and antioxidant properties of silver nanoparticles synthesized from aqueous extracts of *Allium sativum*, *Zingiber officinale*, and *Capsicum frutescens*.** *Pharmacogn Mag*, v. 13, n. 2, p. 201, 2017.
- OYEDEMI, B. O., et al. **Capsaicin and gingerol analogues inhibit the growth of efflux-multidrug resistant bacteria and R-plasmids conjugal transfer.** *J Ethnopharmacol*, v. 245, p. 1-9, 2019.
- ÖZÇELİK, B; KARTAL, M; ORHAN, I. **Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids.** *Pharm Biol*, v. 49, n. 4, p. 396-402, 2011.
- PRASCH, S. et al. **Resistance modulatory and efflux-inhibitory activities of capsaicinoids and capsinoids.** *Bioorg Chem*, v. 82, p. 378-384, 2019.
- RIBEIRO, I. C. D. O., et al. **Plants of the Cerrado with antimicrobial effects against *Staphylococcus* spp. and *Escherichia coli* from cattle.** *BMC Vet Res*, v. 14, n. 1, p. 1-10, 2018.
- RIVERA, M. L. C., et al. **Effect of *Capsicum frutescens* extract, capsaicin, and luteolin on quorum sensing regulated phenotypes.** *J Food Sci*. v. 84, n. 6, p. 1477-1486, 2019.
- ROMULO, A., et al. **Screening of in vitro antimicrobial activity of plants used in traditional Indonesian medicine.** *Pharm Biol*, v. 56, n. 1, p. 287-293, 2018.
- SANTOS, M. M. P., et al. **Antibacterial activity of *Capsicum annum* extract and synthetic capsaicinoid derivatives against *Streptococcus mutans*.** *J Nat Med*, v. 66, n. 2, p. 354-356, 2012.
- SHEN, X. et al. **Anti-fouling and anti-bacterial modification of poly (vinylidene fluoride) membrane by blending with the capsaicin-based copolymer.** *Polymers*, v. 11 n. 2, p. 1-17, 2019.
- SILVA, et al. **Unravelling the effects of the food components ascorbic acid and capsaicin as a novel anti-biofilm agent against *Escherichia coli*.** *J Food Sci Technol*, v. 57, n. 3, p. 1013-1020, 2020.
- SOUZA, M. T. D; SILVA, M. D. D; CARVALHO, R. D. **Revisão integrativa: o que é e como fazer.** *Einstein (São Paulo)*, v. 8, p. 102-106, 2010

UARROTA, V. G. et al. **Factors affecting the capsaicinoid profile of hot peppers and biological activity of their non-pungent analogs (Capsinoids) present in sweet peppers.** *Crit Rev Food Sci Nutr*, v. 61, n. 4, p. 649-665, 2021.

VELOSO, J., et al. **Properties of capsaicinoids for the control of fungi and oomycetes pathogenic to pepper.** *Plant Biol*, v.16, n. 1, p. 177-185, 2014.

WANG, L. et al. **Antimicrobial activities of Asian ginseng, American ginseng, and notoginseng.** *Phytother Res*, v. 34, n. 6, p. 1226-1236, 2020.

YAMAKAWA, et al. **Impact of capsaicin, an active component of chili pepper, on pathogenic chlamydial growth (*Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia pneumoniae*) in immortal human epithelial HeLa cells.** *J Infect Chemother.*, v. 24, n. 2, p. 130-137, 2018.

ZHANG, J. et al. (2020). **Dynamic infection of *Verticillium dahliae* in upland cotton.** *Plant Biol*, v. 22, n. 1, p. 90-105, 2020.

ZHOU, Y. et al. **Capsaicin inhibits *Porphyromonas gingivalis* growth, biofilm formation, gingivomucosal inflammatory cytokine secretion, and in vitro osteoclastogenesis.** *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, v. 33, n. 2, p. 211-219, 2014.

HIDRÓLISE DO AMIDO DE MILHO: LIBERAÇÃO DE AÇÚCARES FERMENTECÍVEIS PARA FABRICAÇÃO DE ETANOL

Data de aceite: 01/09/2021

Paulo Henrique Silva Lopes

Mestrando em Biocombustíveis, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) campus JK Diamantina, MG, Brasil
ID Lattes: 3795330857232166.

Adeline Cristina Pereira Rocha

Mestre em Biocombustíveis, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) campus JK Diamantina, MG, Brasil
ID Lattes: 9312013606004988

David Lee Nelson

Doutor. Professor Visitante do Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) campus JK Diamantina, MG, Brasil
ID Lattes: 4169839363186966

Vivian Machado Benassi

Doutora. Docente da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) campus JK, Instituto de Ciência e Tecnologia Diamantina, MG, Brasil
ID Lattes: 8244877867115110

RESUMO: O amido é um homopolissacarídeo passível de ser hidrolisado por enzimas estereoespecíficas denominadas de amilases, sendo que essas hidrolases podem ser produzidas por células vegetais, animais e microrganismos. Dentre esses, os fungos

filamentosos destacam-se como os maiores produtores desse biocatalisador. O estudo de enzimas apresentam alternativas indubitáveis para a resolução de problemas nos diversos campos industriais e preservacionistas, como a substituição de reagentes químicos onerosos e altamente poluentes para o meio ambiente por um produto facilmente degradável e biológico que não provoca danos severos ao meio ambiente. Informações acerca da conversão de amido em açúcares fermentescíveis por enzimas amilolíticas para fabricação de etanol a partir de milho foram discutidas.

PALAVRAS-CHAVE: Enzimas. Amilases. Amido. Hidrólise. Milho.

HYDROLYSIS OF CORN STARCH BY FILAMENTOUS FUNGI ENZYMES

ABSTRACT: Starch is a homopolysaccharide that can be hydrolyzed by stereospecific enzymes called amylases, and these hydrolases can be produced by plant cells, animals and microorganisms, among which, filamentous fungi stand out as the principal producers of this biocatalyst. The study of enzymes presents undoubted alternatives for solving problems in various industrial and preservationist fields, such as the replacement of costly chemical reagents that are highly polluting with an easily degradable and biological product that does not cause severe damage to the environment. Information regarding the conversion of starch into fermentable sugars by amyolytic enzymes for the manufacture of ethanol from corn is reviewed.

KEYWORDS: Enzymes. Amylases. Starch. Hydrolysis. Corn.

INTRODUÇÃO

Em relação ao volume de produção de grãos no mundo, o milho é o de mais elevada importância (Soares et al., 2017), podendo destacar entre as prováveis aplicações dos grãos de milho a produção do etanol de primeira geração (Rosseto et al., 2017). O principal constituinte dos grãos de milho é o amido, uma macromolécula constituída de dois homopolissacarídeos, sendo esses a amilopectina e a amilose (Tappiban et al., 2019). O amido possui um alto peso molecular e, devido a isto, essa macromolécula necessita sofrer a ação de enzimas específicas para auxiliar na liberação dos açúcares, ação desempenhada pelas hidrolases do sistema amilolítico (Coelho et al., 2018).

As amilases são consideradas ser entre as enzimas de maior aplicação industrial, correspondendo a 33% do total de enzimas utilizadas no mundo (Elumalai et al., 2019). Elas estão entre as biomoléculas que podem ser produzidas por bactérias, leveduras, fungos filamentosos, células vegetais e animais; entretanto, os fungos filamentosos destacam-se devido à alta produção amilolítica, além da facilidade de cultivo (Lima et al., 2015).

Esses biocatalisadores são essências no processamento de matérias-primas amiláceas, hidrolisando ligações *O*-glicosídicas do polissacarídeo em monômeros de glicose e maltooligossacarídeos de cadeia curta. São aplicadas nas indústrias têxteis, alimentícia, de detergente, farmacêutica, biocombustíveis e outras (Yaraş et al., 2015).

Levando-se em conta a possibilidade de produzir etanol por meio dos polímeros constituintes do milho, utiliza-se amilases de fungos filamentosos com elevado potencial de conversão do polissacarídeo em açúcares fermentescíveis. Além disso, o estudo de enzimas apresenta alternativas indubitáveis para a resolução de problemas nos diversos campos industriais e preservacionistas, como a substituição de reagentes químicos caros e altamente poluentes para o meio ambiente por um produto facilmente degradável e biológico, que não provoca danos à natureza. O objetivo deste trabalho é realizar um estudo teórico acerca das informações da conversão de amido em açúcares fermentescíveis por enzimas amilolíticas de origem fúngica para a produção de etanol a partir de milho.

REVISÃO DA LITERATURA

O milho como matéria-prima para fabricação de etanol no Brasil e no mundo

O milho é cultivado em todo o mundo, possuindo 150 espécies diferentes. É uma cultura antiga que, de acordo com a literatura, foi domesticado a 4300 anos atrás em Honduras (Kennett et al., 2017; Abimilho, 2021). Esse cereal caracteriza-se por ser um produto agrícola de grande patamar no mundo, ultrapassando a quantidade de 1 bilhão de toneladas de grãos produzidos. A união da produção do cereal pelos Estados Unidos, China, Brasil e União Europeia correspondeu a mais de 72% do total produzido mundialmente (USDA, 2018a, 2018b).

No Brasil, o cultivo do vegetal está distribuído por diferentes regiões e é condicionado à época ótima de cultivo, levando-se em conta o clima de cada região. Dentre os estados brasileiros, o Mato Grosso é o maior produtor (Conab, 2019) e, o estado de Minas Gerais está entre os estados que compõe a maior fração da produção nacional (Gasques et al., 2018). Vale citar que o lado positivo do seu cultivo no Brasil é a disponibilidade do cereal, a fácil estocagem, excelentes condições climáticas e a utilização de todas as partes do grão (Cargill Agrícola S.A., 2015).

A comercialização dos grãos de milho, embora em meio a pandemia, se mostra bem promissora, levando-se em conta a projeção do aumento de produção. Na safra de 2020/21, houve uma retomada na demanda do etanol proveniente dos grãos de milho, o que contribui para esse mercado (Conab, 2020).

Os grãos de milho são constituídos de óleo, fibra, proteína e amido, sendo este de elevado teor no cereal. Entre as suas aplicações, destaca-se a produção de polímeros, bebidas e combustíveis (Miranda, 2018). Da biomassa do milho, também são identificados a palha e a espiga, as quais podem ser empregadas na rota de produção de etanol de segunda geração (Bortoletto e Alcarde, 2015).

Em alguns países, os grãos são convertidos à etanol, e essa tecnologia vem se intensificando cada vez mais ao longo dos anos, triplicando desde o ano 2000. De forma geral, o etanol é um biocombustível que pode advir da fermentação da cana-de-açúcar ou do milho (O Statista, 2021).

O processo de obtenção do etanol de milho inicia com a moagem dos grãos, seguido pela liquefação, cozimento, fermentação, e destilação para produzir o etanol e a vinhaça. A vinhaça pode passar por diferentes etapas, como a centrifugação, evaporação e secagem até se obter os grãos de destilaria (Pedersen et al., 2015). Em termos de eficiência de conversão, são obtidos cerca de 400 litros de etanol para cada tonelada de grão utilizado nesse processo, enquanto que são obtidos apenas 85 L por tonelada de cana-de-açúcar (Iea, 2018; Manochio et al., 2017).

A produção de etanol tradicional a partir dos grãos de milho requer diferentes etapas de pré-tratamento, dependendo do tipo de processamento a ser utilizado. Na via úmido, caracterizada por submeter os grãos de milho à solução de ácido sulfúrico e água antes da moagem, diferentes frações de composição do grão podem ser recuperadas. Por outro lado, à via à seco consiste basicamente em moer os grãos e depois adicionar água ao pó moído (Manochio et al., 2017).

Em termos de balanço energético, a produção industrial do etanol de milho não é tão favorável, pois etapas adicionais envolvendo gasto energético médio de 4 MJ por litro de álcool produzido são exigidas no processo (Manochio et al., 2017). No entanto, há trabalhos que indicam melhorias prováveis no processo para a redução dos custos de produção utilizando amido granular e processos de sacarificação e fermentação simultâneas (Strak-Craczyk et al., 2019).

Estrutura e composição do amido

Carboidratos são as biomoléculas mais encontradas na natureza. Por definição, são polihidroxi aldeídos ou polihidroxi cetonas, ou compostos que formam esses após a sua hidrólise, sendo constituídas basicamente por oxigênio, hidrogênio e carbono. Entretanto, alguns podem apresentar outros elementos químicos, como nitrogênio, fósforo e enxofre (Nelson e Cox, 2018; Teng et al., 2021; Hornink e Galembeck, 2019).

O amido é um homopolissacarídeo presente em células vegetais, possuindo uma ampla aplicação nos mais diversos processos industriais (Bertoft, 2017), como nas indústrias farmacêutica, construção civil, alimentícia, química e petrolífera (Cargill Agrícola S.A., 2015). O seu destaque perante as aplicações industriais é devido à sua alta disponibilidade, facilidade de extração, baixo custo, caráter renovável, entre outras características (Sarka e Dvoracek, 2017).

O amido é insolúvel em água a temperatura ambiente e é formado por um conjunto de monômeros de D-glicose unidos por ligações *O*-glicosídicas. É composto de dois distintos polímeros: amilose e amilopectina (Chen et al., 2020).

A amilose é um homopolissacarídeo linear composto por unidades de D-glicoses unidas por ligações glicosídicas do tipo (α -1→4), enquanto que a amilopectina é um homopolissacarídeo ramificado constituído de monômeros de D-glicoses unidas por ligações do tipo (α -1→4) e por ligações do tipo (α -1→6) nos pontos de ramificação (Figura 1). O grânulo de amido é composto de cerca de 20 a 30% de amilose e 70 a 80% de amilopectina, a qual tem o maior peso molecular. A concentração de cada polímero varia dependendo da fonte amilácea (Cargill Agrícola S.A., 2015; Masina et al., 2017).

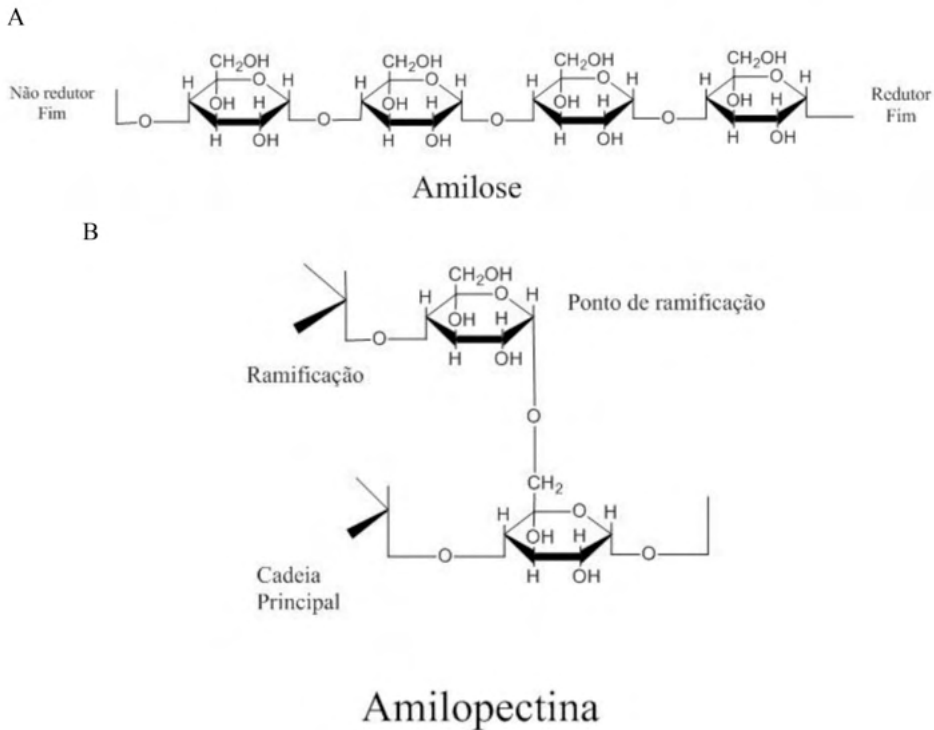


Figura 1 - Estrutura dos polímeros constituintes do homopolissacarídeo amido. (A) amilose e (B) amilopectina.

Nas cadeias de amilose e amilopectina interagindo com lipídeos e proteínas, existe uma alternância entre regiões cristalinas e regiões amorfas (Bertoft, 2017; Liu et al., 2017). Devido a existência desses dois tipos de regiões, o amido apresenta-se estruturalmente sob forma semi-cristalina (Song et al., 2017).

O amido, após ser extraído dos cereais, precisa de tratamento, pois é insolúvel em água em temperatura ambiente. Todavia, se ele for submetido ao aquecimento, ocorre facilmente a sua gelatinização, processo em que o amido se torna mais viscoso e turgente (Zhang et al., 2015). A quantidade de energia ou a temperatura incidente para que ocorra a gelatinização do amido é dependente da origem desse carboidrato, estando na faixa de 60 a 100 °C (Xu et al., 2020).

Amilases e a hidrólise do amido

Os processos industriais podem ser otimizados empregando diversas enzimas. A utilização dessas biomoléculas está associada aos benefícios como alta seletividade, melhor rendimento na geração de produtos, não toxicidade e ausência de produtos indesejáveis (Chapman et al., 2018). Entretanto, para que uma enzima tenha excelência no setor industrial, ela necessita ser de fácil manuseio e ter estabilidade operacional (Velasco-Lozano et al., 2015).

Exemplos de catalisadores biológicos são as lipases, pectinases, celulases, proteases e as amilases (Griebeler et al., 2015). As amilases estão incluídas no grupo das hidrolases e possuem função de hidrolisar a molécula de amido à dextrinas, maltoses e glicoses (Li et al., 2016; Simair et al., 2017). As enzimas amilolíticas possuem uma considerável importância para o setor industrial, pois são essenciais em processos que envolvam a fabricação de pães, cervejas, papéis, e detergentes, a retirada de umidade de tecidos, a produção de xaropes, liquefação do amido, entre outros (Simair et al., 2017; Benassi, 2018). Existem diferentes tipos de enzimas amilolíticas e elas podem ser classificadas de acordo ao tipo de hidrólise que são capazes de realizar na molécula de amido e aos produtos de hidrólise formados (Griebeler et al., 2015; Li et al., 2016).

Amilases pertencem, em sua maioria, à família 13 de glicosil transferases, isto é, hidrolisam ligações α -glicosídicas para produzir mono- ou oligossacarídeos α -anoméricos. Catalisam a hidrólise de ligações glicosídicas α -1,4 ou α -1,6, ou uma combinação de ambas as atividades. As amilases apresentam estrutura em barril (α/β)₈ ou barril TIM, que foi primeiramente descrito para triose isomerase. Todas têm quatro regiões altamente conservadas em sua seqüência primária contendo o sítio catalítico e os mais importantes sítios de ligação ao substrato. Todas possuem resíduos como Asp (ácido aspártico) e Glu (ácido glutâmico) no sítio catalítico, correspondendo a Asp-206, Glu-230 e Asp-270 da takaamilase A (HENRISSAT, 1991 e MORAES, 2004).

Basicamente, existem quatro enzimas conversoras de amido: endoamilases, exoamilases, enzimas desramificadoras e transferases (GUPTA, 2003; ROY & GUPTA, 2004; MORAES, 2004; NOROUZIAN et al., 2006; BONILHA et al., 2006). Endoamilases são enzimas capazes de hidrolisar as ligações glicosídicas α -1,4 no interior da cadeia amilolítica. As exoamilases, que agem sobre os resíduos externos de glicose da amilose e da amilopectina, produzem somente D-glucose ou maltose e β -dextrinas limites. As enzimas desramificadoras caracterizam-se por hidrolisar exclusivamente ligações α -1,6, tal como a isoamilase e pululanase tipo I. As amilases transferases representam o quarto grupo de enzimas conversoras de amido; são transferases que quebram ligações O-glicosídicas α -1,4 da molécula doadora e transferem parte do doador para um aceptor glicosídico com a formação de uma nova ligação glicosídica (TACHIBANA, 1999, FERNANDES et al., 2007).

Na literatura são descritos alguns tipos de amilase:

- α -Amilase ou 1,4- α -D-glucano glucanohidrolase (EC 3.2.1.1) trata-se de uma endoamilase que promove a hidrólise de ligações α -1,4 no interior da cadeia de amilose e de amilopectina, liberando várias cadeias de oligossacarídeos de diversos tamanhos que apresentam configuração α no C1 (Kikani et al., 2020);
- β -Amilase ou 1,4- α -D-glucano maltohidrolase (EC 3.2.1.2) é uma exohidrolase que hidrolisa a penúltima ligação α -1,4 da extremidade não redutora da cadeia de substrato, causando inversão da configuração anomérica da maltose, que é liberada na forma β (Bott et al., 2018; Sigma-Aldrich, 2021);

- α -Glucosidase, α -D-glucosidase glucohidrolase ou maltase (EC 3.2.1.20), trata-se de uma exohidrolase que hidrolisa ligações glicosídicas do tipo α -1,4, α -1,6 ou ambos de sacarídeos curtos, formados pela ação de outras enzimas amilolíticas. α -Glucosidase é capaz de liberar unidades de α -D-glicose a partir da extremidade não redutora (AVCI et al., 2020);
- Glucoamilase, 4- α -D-glucan glucohidrolase ou amiloglicosidase (EC 3.2.1.3) é uma exoamilase capaz de hidrolisar ligações glicosídicas do tipo α -1,4 por meio da remoção de sucessivas unidades de glicose a partir da extremidade não redutora da cadeia, liberando moléculas de D-glicose na conformação β . Essas enzimas também hidrolisam, mas com uma velocidade menor, as ligações α -1,6 e algumas ligações do tipo α -1,3 e α -1,2. (Silano et al., 2020b);
- Pululanase do tipo I ou α -dextrina-6-glucanohidrolase (EC 3.2.1.41) é uma endoamilase que hidrolisa ligações α -1,6 do polissacarídeo pululano convertendo-o quase completamente a maltodextrina, podendo também, dar origem a produtos de reação sem pontos de ramificação quando atua sobre ligações α -1,6 das moléculas de amido, amilopectina e dextrinas limite. Essa enzima não exerce nenhum efeito sobre as ligações α -1,4 (Nisha e Satyanarayana, 2016; Kahar et al., 2017; Sigma-Aldrich, 2021).

Além destas, existe a isoamilase ou glicogênio α -1,6-glucanohidrolase (EC 3.2.1.68) (Silano et al., 2020c); 1,4- α -D-maltotetrahidrolase (EC 3.2.1.60), também conhecida por 1,4- α -D-glucano maltotetrahidrolase (Silano et al., 2019); ciclomaltodextrina glucotransferase; transferase (EC 2.4.1.19) (Silano et al., 2020a); oligo- α -1,6-glucosidase (EC 3.2.1.10) (Dong et al., 2020), e amilases maltogênicas (EC 3.2.1.133) (Bott et al., 2018; Mohanan e Satyanarayana, 2019), entre outros tipos.

O uso de amilases na obtenção de xarope de maltose ou glicose por meio da hidrólise do amido ocorre pelos processos da liquefação e sacarificação. A primeira das etapas do processo é a liquefação. Essa etapa é conduzida em temperaturas acima de 95°C, e ela consiste em reduzir a viscosidade do amido por meio da α -amilases termicamente estáveis (Bott et al., 2018). Posteriormente, o hidrolisado de amido ou o produto liquefeito passa pela sacarificação, onde a enzima glucoamilase produz um xarope que contém um elevado teor de glicose. O xarope pode ser submetido a processos fermentativos conduzidos por leveduras para a produção do etanol. Essas enzimas biológicas podem ser obtidas de diferentes tipos de fontes; entretanto, os fungos filamentosos possuem o maior potencial de produção de amilases com maior atividade enzimática, estabilidade ao pH e à temperatura (Coelho et al., 2018; Sindhu et al., 2017).

CONCLUSÕES

Nesse contexto, percebe-se que a hidrólise de milho pela ação de amilases apresenta alternativas indubitáveis para a resolução de problemas nos diversos campos industriais e preservacionistas, em especial na síntese de etanol.

AGRADECIMENTOS

À UFVJM e ao Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis pela infraestrutura e recursos. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pesquisa de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Agradecemos à FAPEMIG, CAPES e a toda equipe de discentes e docentes que colaboraram com o desenvolvimento do trabalho.

REFERÊNCIAS

Abimilho – Associação Brasileira das Indústrias do Milho. Estatísticas. Disponível em: <http://www.abimilho.com.br/estatisticas>. Acesso em: 22/07/2021.

Avci, D.; Altürk, S.; Sönmez, F.; Tamer, Ö., Başoğlu, A.; Atalay, Y.; Kurt, B.Z. Synthesis, DFT calculations and molecular docking study of mixed ligand metal complexes containing 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridyl as α -glucosidase inhibitors. *Journal of Molecular Structure*, 1205:1, 127655, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127655>.

Benassi, V.M. Prospecção de fungos filamentosos termotolerantes e termofílicos de distintos materiais coletados no estado de minas gerais e análise de potenciais produtores de amilases. *Revista Unimontes Científica*, 20:1, 150-169, 2018. ISSN 2236-5257.

Bertoft, E. Understanding starch structure: recent progress. *Agronomy*, 7:3, 56, 2017. <https://doi.org/10.3390/agronomy7030056>.

Bonilha, P.R.M.; Menocci, V.; Goulart, A.J.; Polizeli, M.L.T.M.; Monti, R. Cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus licheniformis*: optimization of production and its properties. *Brazilian Journal Microbiology*, 37:3, 317-323, 2006. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822006000300022>.

Bortoletto, A.M.; Alcarde, A.R. Dominante nos EUA, etanol de milho é opção, no Brasil, para safra excedente. *Revista Visão Agrícola*, 1:13, 135-137, 2015.

Bott, R.R.; Hua, L.; Qian, Z.; Rife, C.L.; Shetty, J.; Tang, Z.; Yu, Z.; Zhang, B. Amylase with maltogenic properties, United States patent application publication. US 2018/0112203 A1, 20 nov. 2012, 26 abr. 2018. Disponível em: <https://patentimages.storage.googleapis.com/dc/7b/c8/b4842fb0fa4466/US20180112203A1.pdf>. Acesso em: 14/07/2021.

Cargill Agrícola S.A. O amido e suas propriedades para o setor alimentício. *Food Ingredients Brasil*, 1:35, 41-44, 2015. Disponível em: www.revista-fi.com. Acesso em: 14/07/2021.

Chapman, J.; Ismail, A.E.; Dinu, C.Z. Industrial applications of enzymes: recent advances, techniques, and outlooks. *Catalysts*, 8:6, 238, 2018. <https://doi.org/10.3390/catal8060238>.

Chen, Z.; Zhang, H.; Keipper, W.; Pu, H.; Yang, Q.; Fang, C.; Shu, G.; Huang, J. The analysis of the effects of high hydrostatic pressure (HHP) on amylose molecular conformation at atomic level based on molecular dynamics simulation. *Food Chemistry*, 327:1, 127047, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127047>.

Coelho, G.D.; Souza, J.P. De; Lima, C. De A.; Lins, S.A. Da S. Potencial de fungos da caatinga para produção de enzimas amilolíticas. *Revista Saúde e Ciência Online*, 7:2, 286-297, 2018. <https://doi.org/10.35572/rsc.v7i2.117>.

Conab - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos: décimo segundo levantamento, setembro 2019 – safra 2018/2019; Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2019. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>>. Acesso em: 14/07/2021.

Conab - Companhia Nacional de Abastecimento. Perspectivas para a agropecuária, safra 2020/21. Brasília: Edição grãos, 8, 2020. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/perspectivas-para-a-agropecuaria>. Acesso em: 22/07/2021.

Dong, Z.; Tang, C.; Lu, Y.; Yao, L.; Kan, Y. Microbial Oligo- α -1,6-Glucosidase: Current Developments and Future Perspectives. *Starch/Staerke*, 72:1-2, 1900172, 2020. <https://doi.org/10.1002/star.201900172>.

Elumalai, P.; Lim J.M.; Park Y.J.; Cho M.; Shea P.J.; Oh B.T. Enhanced amylase production by a *Bacillus subtilis* strain under blue light-emitting diodes. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 49:2, 143-150, 2019. <https://doi.org/10.1080/10826068.2018.1550656>.

Fernades, L.P.; Ulhoa, C.J.; Asquieri, E.R.; Monteiro, V.N. Produção de amilases pelo fungo *Macrophomina phaseolina*. *Revista Eletrônica de Farmácia*. 4(1): 43-51, 2007. ISSN 1808-0804.

Gasques, J.G.; Souza, G. Da S. E; Bastos, E.T. Tendências do agronegócio brasileiro para 2017-2030. In: RODIGUES, R. (Org.). *Agro é paz: análises e propostas para o Brasil alimentar o mundo*. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1:1, 31-68, 2018.

Griebeler, N.E.; Bortoli, V. De; Astolfi, A.L.; Daronch, N.A.; Schumann, A.C.; Salazar, L.N.; Cansian, R.L.; Backes, G.T.; Zeni, J. Seleção de fungos filamentosos produtores de amilases, proteases, celulasas e pectinases. *Revista Acadêmica: Ciência Animal*, 13:1, 13-22, 2015. ISSN 2596-2868.

Gupta, R.; Gigras, P.; Mohapatra, H.; Goswami, V.K.; Chauhan, B. Microbiol α -amylases: a biotechnological perspective. *Process Biochemistry*, 38:11, 1599-1616, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00053-0](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00053-0).

Henrissat, B. A classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochemical Journal*, 280:2, 309-316, 1991. <https://doi.org/10.1042/bj2800309>.

Hornink, G.G.; Galembeck, G. *Glossário cervejeiro: da cultura à ciência*. Alfenas-MG: Editora Universidade Federal de Alfenas, 2019. Disponível em: <http://www.unifal-mg.edu.br/bibliotecas/ebooks>. Acesso em: 22/07/2021.

Instituto de Economia Agrícola. Situação atual e perspectivas da produção brasileira de etanol de milho. IEA, 2018. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=14464>>. Acesso em: 14/07/2021.

Kahar, U.M.; Chan, K.G.; Sani, M.H.; Mohd Noh, N.I.; Goh, K.M. Effects of single and co-immobilization on the product specificity of type I pullulanase from *Anoxybacillus* sp. SK3-4. *Int. J. Biol. Macromol.*, 104:1, 322-332, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.06.054>.

Kennett, D.J.; Thakar, H.B.; VanDerwarker, A.M.; Webster, D.L.; Culleton, B.J.; Harper, T. K.; ... & Hirth, K. High-precision chronology for Central American maize diversification from El Gigante rockshelter, Honduras. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114:34, 9026-9031, 2017. <https://doi.org/10.1073/pnas.1705052114>.

Kikani, B.A.; Kourien, S.; Rathod, U. Stability and thermodynamic attributes of starch hydrolyzing α -amylase of *Anoxybacillus rupiensis* TS-4. *Starch – Stärke*, 72:1-2, 1900102-1900105, 2020. <https://doi.org/10.1002/star.201900105>.

Li, Z.; Duan, X.; Wu, J. Improving the thermostability and enhancing the Ca(2+) binding of the maltohexaose-forming α -amylase from *Bacillus stearothermophilus*. *J. Biotechnol.*, 20:1, 65-72, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.02.013>.

Lima, M.S.; Santos, B.A.C.; Soares, J.M.M.Q.; Lima, T.R.A.; Silva, T.H.L. Potencial de fungos filamentosos na produção de enzimas utilizando diferentes fontes de amido. *Revista Brasileira de Agrotecnologia, Brasil*, 5:1, 49-53, 2015. ISSN 2317-3114.

Liu, G.D.; Gu, Z.B.; Hong, Y.; Cheng, L.; Li, C.M. Structure, functionality and applications of debranched starch: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 63:1, 70-79, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.03.004>.

Manochio, C.; Andrade, B.R.; Rodriguez, R.P.; Moraes, B.S. Ethanol from biomass: a comparative overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 80, 743-755, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.063>.

Masina, N.; Choonara, Y.E.; Kumar, P.; Toit, L.C.; Govender, M.; Indermun, S.; Pillay, V. A review of the Chemical modification techniques of starch. *Carbohydrate Polymers*, 157:1, 1226-1236, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.094>.

Miranda, R.A. de. Uma história de sucesso da civilização. *A Granja*, 74:829, 24-27, 2018.

Mohanani, N.; Satyanarayana, T. Amylases. *Reference Module in Life Sciences*, 1:4, 107-126, 2019. doi:10.1016/B978-0-12-809633-8.13003-1.

Moraes, L.M.P. Amilases. *In: Enzimas como agentes Biotecnológicos*. Said, S.; Pietro, R.C.L.R., editores, Ribeirão Preto: Editora Legis Summa, capítulo 13, 2004.

Nelson, D.L.; Cox, M.M. *Princípios de bioquímica de Lehninger*. 7ª ed. Artmed Editora, 2018.

Nisha, M.; Satyanarayana, T. Characteristics, protein engineering and applications of microbial thermostable pullulanases and pullulan hydrolases. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 100:13, 5661-5679, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7572-y>.

Norouzian, D.; Akbarzadeh, A.; Schärer, J.M.; Mõo Young, M. Fungal glucoamylases. *Biotechnology Advances*, 24:1, 80-85, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2005.06.003>.

O Statista. Worldwide production of grain in 2019/20, by type. Nova Iorque, Statista, Inc., 2021. Disponível em: <<https://www.statista.com/statistics/263977/world-grain-production-by-type/>>. Acesso em: 14/07/2021.

Pedersen, M.B.; Dalsgaard, S.; Arent, S.; Lorentsen, R.; Knudsen, K.; Yu, S.; Lærke, H.N. Xylanase and protease increase solubilization of non- starch polysaccharides and nutrient release of corn-and wheat distillers dried grains with solubles. *Biochemical Engineering Journal*, 98:1, 99-106, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.02.036>.

Rosseto, R.E.; Madalena, L.C.S.; Oliveira, A.F.; Chang, P.; Primieri, B.F.; Frigo, E.P.; Santos, R.F. Panorama do etanol do Brasil. *Acta Iguazu*, 6:5, 13-22, 2017. <https://doi.org/10.48075/actaiguaz.v6i5.18466>.

Roy, I.; Gupta, M.N. Hydrolysis of starch a mixture of glucoamylase and pullulanase entrapped individually in calcium alginate beads. *Enzyme and Microbial Technology*, 34:1, 26-32, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2003.07.001>.

Sarka, E.; Dvoracek, V. New processing and applications of waxy starch (a review). *Journal of Food Engineering*, 206:1, 77-87, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.006>.

Sigma-Aldrich. Catálogo de produtos. 2021. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?term=AMILASE&interface=All&N=0&mode=match%20partialmax&lang=pt®ion=BR&focus=product>>. Acesso em: 14/07/2021.

Silano, V.; Baviera, J.M.B.; Bolognesi, C.; Brüscheiler, B.J.; Coconcelli, P.S.; Crebelli, R.; Gott, D.M.; Grob, K.; Lampi, E.; Mortensen, A.; Rivière, G.; Steffensen, I.; Tlustos, C.; Loveren, H.V.; Vernis, L.; Zorn, H.; Glandorf, B.; Herman, L.; Engel, K.; Kärenlampi, S.; Marcon, F.; Penninks, A.; Aguilera, J.; Aguilera-Gómez, M.; Kovalkovicova, N.; Liu, Y.; Maia, J.; Rainieri, S.; Chesson, A. Safety evaluation of the food enzyme glucan 1,4- α -maltotetraohydrolase from *Bacillus licheniformis* (strain DP-Dzr46). *EFSA Journal*, 17:5, e5684, 2019. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5684>.

Silano, V.; Baviera, J.M.B.; Bolognesi, C.; Coconcelli, P.S.; Crebelli, R.; Gott, D.M.; Grob, K.; Lambré, C.; Lampi, E.; Mengelers, M.; Mortensen, A.; Rivière, G.; Steffensen, I.; Tlustos, C.; Loveren, H.V.; Vernis, L.; Zorn, H.; Glandorf, B.; Herman, L.; Andryszkiewicz, M.; Gomes, A.; Liu, Y.; Chesson, A. Safety evaluation of the food cyclomaltodextrin glucanotransferase from *Paenibacillus illinoisensis* strain 107. *EFSA Journal*, 18:5, e06044, 2020a. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6044>.

Silano, V.; Baviera, J.M.B.; Bolognesi, C.; Coconcelli, P.S.; Crebelli, R.; Gott, D.M.; Grob, K.; Lambré, C.; Lampi, E.; Mengelers, M.; Mortensen, A.; Rivière, G.; Steffensen, I.; Tlustos, C.; Loveren, H.V.; Vernis, L.; Zorn, H.; Herman, L.; Aguilera, J.; Andryszkiewicz, M.; Arcella, D.; Kovalkovicova, N.; Liu, Y.; Chesson, A. Safety evaluation of the food enzyme glucan 1,4- α -glucosidase from the genetically modified *Trichoderma reesei* strain DP-Nzh38. *EFSA Journal*, 18:5, e06126, 2020b. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6126>.

Silano, V.; Baviera, J.M.B.; Bolognesi, C.; Coconcelli, P.S.; Crebelli, R.; Gott, D.M.; Grob, K.; Lambré, C.; Lampi, E.; Mengelers, M.; Mortensen, A.; Rivière, G.; Steffensen, I.; Tlustos, C.; Loveren, H.V.; Vernis, L.; Zorn, H.; Glandorf, B.; Herman, L.; Aguilera, J.; Horn, C.; Maia, J.; Liu, Y.; Chesson, A. Safety evaluation of the food enzyme isoamylase from a *Dyella* sp. strain. *EFSA Journal*, 18:10, e06250, 2020c. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6250>.

Simair, A.A.; Qureshi, A.S.; Khushk, I.; Ali, C.H.; Lashari, S.; Bhutto, M.A.; Mangrio, G.S.; Lu, C. Production and partial characterization of α -amylase enzyme from *Bacillus* sp. BCC 01-50 and Potential Applications. *BioMed Research International*, 2017: Artigo ID 9173040, 1-9, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/9173040>.

Sindhu, R.; Binod, P.; Madhavan, A.; Beevi, U.S.; Mathew, A.K.; Abraham, A.; Pandey, A.; Kumar, V. Molecular improvements in microbial α -amylases for enhanced stability and catalytic efficiency. *Bioresource Technology*, 245:1, 1740-1748, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.098>.

Soares, R.J. Da S.; Pinto, A.A.; Camara, F.T. Da; Santana, L.D. Produtividade de massa verde de milho transgênico em função do arranjo populacional na região do Cariri, CE. *Interações (Campo Grande), Campo Grande*, 18:2, 117, 2017. <https://doi.org/10.20435/inter.v18i2.1444>.

Song, M.R.; Choi, S.H.; Oh, S.M.; Kim, H.Y.; Bae, J.E.; Park, C.S.; Kim, B.Y.; Baik, M.Y. Characterization of amorphous granular starches prepared by high hydrostatic pressure (HHP). *Food Science Biotechnology*, 26:3, 671-678, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0106-2>.

Strąk-Graczyk, E.; Balcerek, M.; Przybylski, K.; Żyżelewicz, D. Simultaneous saccharification and fermentation of native rye, wheat and triticale starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99:11, 4904-4912, 2019. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9718>.

Tachibana, Y.; Fujiwara, S.; Takagi, M.; Imanaka, T. Cloning and expression of the 4- α -glucanotransferase gene from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus* sp. KOD1, and characterization of the enzyme. *Journal of Fermentation Bioengineering*, 83:6, 540-548, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0922-338X\(97\)81134-8](https://doi.org/10.1016/S0922-338X(97)81134-8).

Tappiban, P.; Smith, D.R.; Triwitayakorn, K.; Bao, J. Recent understanding of starch biosynthesis in cassava for quality improvement: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 83:1, 167-180, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.11.019>.

Teng, C., Chen, D., Wu, G., & Campanella, O. Non-invasive techniques to study starch structure and starchy products properties. *Current Opinion in Food Science*, 38:1, 196-202, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.11.008>.

Usda. United States Department of Agriculture. Grain: world markets and trade. 2018a. Disponível em: <<https://www.fas.usda.gov/data/grain-world-markets-and-trade>>. Acesso em: 14/07/2021.

Usda. United States Department of Agriculture. World agricultural production. 2018b. Disponível em: <<https://www.fas.usda.gov/data/world-agricultural-production>>. Acesso em: 14/07/2021.

Velasco-Lozano, S.; Lopez-Gallego, F.; Mateos-Diaz, J.C.; Favela-Torres, E. Cross linked enzyme aggregates (CLEA) in enzyme improvement – a review. *Biocatalysis*, 1:1, 166-177, 2015. <https://doi.org/10.1515/boca-2015-0012>.

Xu, J.; Blennow, A.; Li, X.; Chen, L.; Liu, X. Gelatinization dynamics of starch in dependence of its lamellar structure, crystalline polymorphs and amylose content. *Carbohydr Polym*, 229:1, 115481, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115481>.

Yaraş, A.; Selen, V.; Özer, D. Synergistic effects of agro-industrial wastes on alpha amylase production by *Bacillus amyloliquefaciens* in semi solid substrate fermentation. *Pamukkale Univ. J. Engineering Sci*, 21:7, 314-318, 2015. doi:10.5505/pajes.2015.60783.

Zhang, B.; Chen, L.; Xie, F.; Li, X.; Truss, R.W.; Halley, P.J.; Shamshina, J.L.; Rogers, R.D.; McNally, T. Understanding the structural disorganization of starch in water-ionic liquid solutions. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 17:21, 13860-13871, 2015. doi: 10.1039/C5CP01176K.

CAPÍTULO 9

ESTUDO DE CASO: ANÁLISE DOS PARÂMETROS LABORATORIAIS E CLÍNICOS DE PACIENTE COM SEPSE EM HOSPITAL PRIVADO DE MINAS GERAIS

Data de aceite: 01/09/2021

Data de submissão: 28/05/2021

Mariana de Souza Carvalho

FaSaR- Faculdade Santa Rita
Conselheiro Lafaiete, MG
<http://lattes.cnpq.br/4267615394235450>

Isadora Moreira Costa do Nascimento Nogueira

FaSaR- Faculdade Santa Rita
Conselheiro Lafaiete, MG
<http://lattes.cnpq.br/8185182087428253>

RESUMO: A sepse é uma disfunção orgânica causada por uma resposta desregulada do organismo devido a infecção. Analisando sinais e sintomas, pode-se observar anormalidade celular, circulatória, metabólica, assim como também alterações laboratoriais. No Brasil, as UTI's são tidas como infecções bacterianas mais comuns, que podem desencadear a uma sepse, sendo responsáveis por 80 em cada 1.000 consultas clínicas. O presente estudo terá como objetivo avaliar os parâmetros laboratoriais e clínicos de paciente com sepse em hospital privado de Minas Gerais. O estudo será realizado a partir de resultados levantados no banco de dados do laboratório co-participante situado em Ouro Branco, MG.

PALAVRAS-CHAVE: Sepse; *Proteus sp*; *Clostridium difficile*; *Klebsiela sp*; *Serratia sp*.

CASE STUDY: ANALYSIS OF THE LABORATORY AND CLINICAL PARAMETERS OF A PATIENT WITH SEPSIS IN A PRIVATE HOSPITAL OF MINAS GERAIS

ABSTRACT: Sepsis is an organ dysfunction caused by a dysregulated response of the body due to infection. Analyzing signs and symptoms, one can observe cellular, circulatory, metabolic abnormalities, as well as laboratory changes. In Brazil, UTI's are considered the most common bacterial infections that can trigger sepsis, being responsible for 80 out of every 1,000 clinical consultations. The present study will aim to evaluate the laboratory and clinical parameters of patients with sepsis in a private hospital in Minas Gerais. The study will be performed from results collected in the database of the co-participating laboratory located in Ouro Branco, MG.

KEYWORDS: Sepsis; *Proteus sp*; *Clostridium difficile*; *Klebsiela sp*; *Serratia sp*.

INTRODUÇÃO

A sepse é estabelecida pelo Instituto Latino-Americano de Sepse (ILAS), como uma ampla alteração celular, causada por uma infecção desregulada, acometendo principalmente pacientes imunossuprimidos. Pode ser definida como, a resposta sistêmica a uma doença infecciosa, que pode ser desencadeada pelos microrganismos: bactérias, vírus, fungos ou protozoários (ILAS, 2015).

Segundo a Sociedade de Medicina

Intensiva (SCCM), como espectros da doença, a mesma pode ser classificada em: sepse não complicada, sepse grave e choque séptico, que é resultante de uma resposta inflamatória sistêmica do hospedeiro proveniente de uma infecção (BARROS; MAIA; MONTEIRO, 2016).

Para uma provável infecção, são analisados pelo menos dois sinais ou sintomas recentes e presentes no momento do diagnóstico inicial. Dentre estes sintomas, se caracterizam a temperatura maior que 38,3°C (hipertermia); temperatura menor que 36°C (hipotermia); frequência cardíaca superior a 90 bpm (batimentos por minuto), (taquicardia); frequência respiratória maior que 20 irpm (taquipnéia), pressão arterial sistólica menor que 90 mmhg ou pressão arterial média menor que 65 mmhg, alteração aguda do estado mental, calafrios ou tremores, leucócitos totais maiores que 12000/mm³ e leucócitos totais menores que 4000/mm³(ZOPPI,2017).

O choque séptico ocorre principalmente por bactérias gram-positivas e bactérias gram-negativas, levando a um subconjunto de causas patológicas nos pacientes. O choque séptico aumenta gradualmente a cada ano (TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, CL., 2012).

É incontestável o fato de que a sepse constitui problema de saúde pública e, por isso, o seu controle e prevenção devem ser priorizados, uma vez que, é responsável por importante causa de mortes em todo o mundo. De acordo com o Instituto ILAS, a sepse constitui a segunda principal causa de mortalidade em Unidades de terapia intensiva (UTI), tendo a sua incidência acrescida de 82,7 casos para cada 100.000 habitantes em 1979, para 240,4 habitantes para cada 100.000 habitantes em 2000 (GARRIDO, 2017).

Um estudo de prevalência em cerca de 230 UTIs em hospitais, aleatoriamente selecionados, assinala que aproximadamente 30% dos leitos de UTI no Brasil estão ocupados por pacientes acometidos por sepse grave ou choque séptico. Nesse mesmo estudo, conduzido pelo ILAS, apresenta resultados iniciais alarmantes, com letalidade em cerca de 50% dos acometidos (ILAS, 2015).

Acometendo pessoas imunossuprimidas e sensibilizadas, ou em UTI, a sepse é considerada um grande problema de saúde pública, pois causa sérios prejuízos ao organismo. Esse trabalho possui o objetivo de ressaltar a importância dos exames laboratoriais e os fatores clínicos envolvidos através de um estudo de caso único de paciente com o diagnóstico de sepse em Hospital Privado de Minas Gerais. Além de, conhecer as consequências dessa disfunção, um fator extremamente preocupante, uma vez que acarreta diversos prejuízos em seu desenvolvimento. E assim, buscar o auxílio e a união à profissionais de saúde, dessa patologia que acomete muitos indivíduos imunossuprimidos.

METODOLOGIA

Coleta de dados por meio de software do hospital

O presente trabalho consiste em um estudo de caso único. O estudo se baseou em uma pesquisa de um paciente apresentando sepse, com suas evoluções clínicas e laboratoriais, em um determinado hospital privado de Minas Gerais. Foram analisadas as evoluções médicas e os exames laboratoriais, como hemograma, hemocultura, antibiograma, exames bioquímicos e imunológicos.

Anteriormente a coleta de dados, será direcionado ao responsável legal do laboratório um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), solicitando-o autorização para realização da pesquisa, no qual estarão explicitados os objetivos e técnicas para coleta de dados, bem como os aspectos éticos da pesquisa, além da garantia do sigilo e o anonimato para com o paciente participante da pesquisa. Será então solicitada a assinatura do TCLE em duas vias, autorizando a execução da pesquisa pelo responsável legal do laboratório.

Realizou-se uma análise de dados diretos e indiretos, onde eles foram obtidos de um software (Tasy) usado pela empresa para controle de dados e resultados de exames dos pacientes. O presente estudo analisou as principais amostras e resultados de sangue do paciente, realizada no período de janeiro a março do ano de 2020, e as evoluções clínicas respectivas também a esse período. Referente aos dados coletados no software foi realizada a análise com duplo observador.

Após obter os resultados laboratoriais, foi separado o número de prescrição e prontuário de cada cadastro do respectivo dia do paciente, e separado em arquivo Word com seus resultados laboratoriais e manifestações clínicas do dia.

Os resultados obtidos irão revelar se há uma correlação nos exames relacionando com o quadro clínico de sepse do paciente.

Coleta de sangue e análise clínica da amostra

A coleta de sangue do paciente foi realizada por enfermeiros ou técnicos de enfermagem, e levadas para o laboratório imediatamente. Juntos com as amostras de sangue, é direcionado um pedido médico com os exames para serem realizados. As coletas de sangue foram coletadas por via punção venosa ou arterial, em tubos a vácuo no período estipulado pelo médico (manhã, tarde ou noite).

Após a centrifugação do sangue para amostra bioquímica, o soro foi inserido no aparelho **ADVIA®** de bioquímica para a realização das análises do resultado. Assim hemograma e dos respectivos exames de microbiologia, gasometria e exames de coagulação.

TESTES LABORATORIAIS

Perfil bioquímico

As dosagens de ácido láctico, creatinina, ureia, eletrólitos, PCR e glicose, foram realizadas no aparelho automatizado de bioquímica **ADVIA®**.

Perfil hematológico

As amostras de sangue do paciente também foram coletadas por via venosa em tubo de EDTA. Após o cadastro dos exames no software do hospital, foram passados no aparelho de hematologia **Coulter LH 750 Hematology Analyzer®**

Exames de coagulação

Os exames de coagulação como TAP e TTPA, também foram coletados em tubos específicos de citrato de sódio, para a realização da análise da amostra. Estes foram analisados no aparelho **Huma Clot Junior**.

Exames microbiológicos

Para análise das hemoculturas, foi utilizado o aparelho **BD BACTEC™**, com o sistema automatizado, com a finalidade de detecção do crescimento de microrganismos em amostras de sangue. Os demais exames de cultura foram estabelecidos meio de cultura apropriado para este fim.

Exames de gasometria

Para os resultados de gasometria arterial e venosa foi utilizado o sistema de Gasometria **RAPID Point® 500**, liberando os resultados com 60 segundos, para uma análise médica mais flexível e rápida.

Controle interno

Todas as amostras de sangue foram passadas nos aparelhos após o controle interno do laboratório, passado durante a manhã, tarde e noite. Exames alterados foram repetidos e confirmados para a liberação do resultado.

RESULTADOS E DISCUSOES

Evolução clínica do paciente

Paciente 80 anos, sexo masculino, hipertenso, coronariopata, tabagista, e há seis meses em tratamento de TEP (Tromboembolismo pulmonar). Deu entrada em janeiro de 2020 no pronto atendimento apresentando quadro confusional em evolução há três dias. Em uma análise resumida, de janeiro a março de 2020, o paciente apresentou agitação

psicomotora, crises convulsivas de longa e curta duração e rebaixamento do sensório, pioras neurológicas decorrentes, picos febris, quadro de dor abdominal aguda intensa, micção com dificuldade e polaciúria, quadros decorrentes de constipação intestinal e diarreia, vômitos, hemorragia subconjuntival no olho direito, sem lesões na mucosa oral, pequena hemorragia em região temporal mesial a esquerda com edema adjacente.

Resultados laboratoriais

Esse estudo analisou os principais resultados laboratoriais do paciente (sexo masculino, 80 anos) durante o período compreendido entre janeiro a março de 2020. Em uma análise do gráfico 1- Temperatura (c°) de janeiro a março, é possível observar as oscilações de temperatura do paciente.

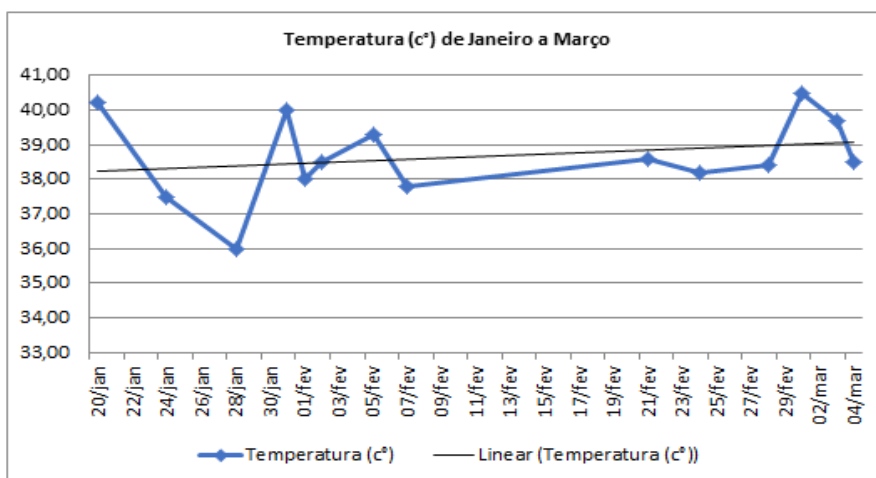


Gráfico 1. Temperatura (c°) de janeiro a março.

Fonte: Dados da pesquisa (2020).

Em uma análise do gráfico 2- Exames realizados de janeiro a março, mostra durante esse período, as análises, sendo: 6 (seis) hemogramas, 11 (onze) exames de coagulação, 2 (dois) exames parasitológicos, e 3 (três) resultados microbiológicos, incluindo gram da gota de exame de urina rotina. No setor de bioquímica, foram realizados 53 (cinquenta e três) exames.

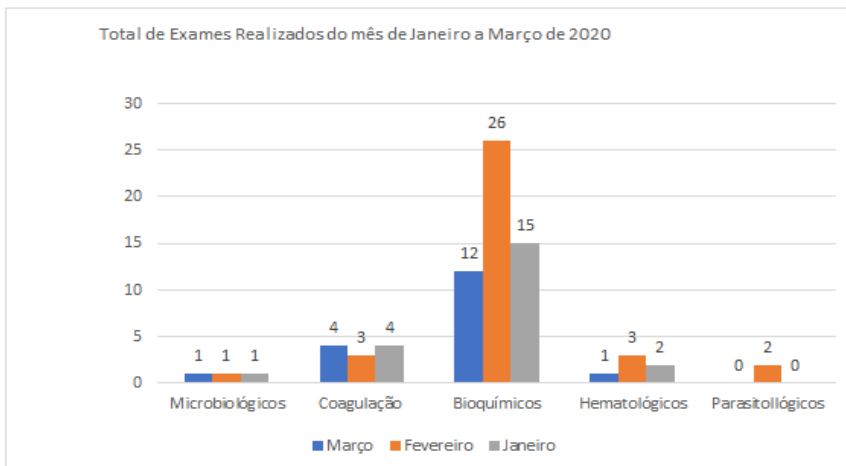


Gráfico 2- Exames realizados de janeiro a março de 2020.

Fonte: Dados da pesquisa (2020).

Em uma análise hematológica, foi observado um comprometimento dos eritrócitos, variando de 2,4 a 4,27(valor de referência: 4,5 a 6,7 milhões/mm³), alterações significativas nas dosagens de hemoglobina, variando de 8,5 a 14,0(valor de referência: 14 a 18 g/dl), assim como também, comprometimento do hematócrito do paciente, podendo afetar seu desenvolvimento eritropoiético, variando de 24,8 a 43,4(valor de referência: 41,5 a 54,7%). Em uma análise abaixo do gráfico 3- Alterações nos Eritrócitos de Janeiro a Março é possível observar essas alterações.

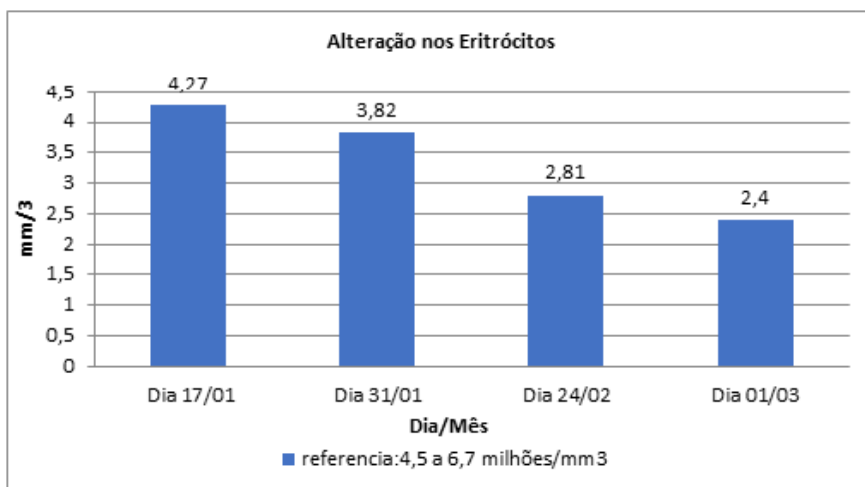


Gráfico 3- Alterações nos Eritrócitos de Janeiro a Março.

Fonte: Dados da pesquisa (2020).

Além dos eritrócitos, também foram observadas alterações significativas nas dosagens de hemoglobina (Gráfico 4).

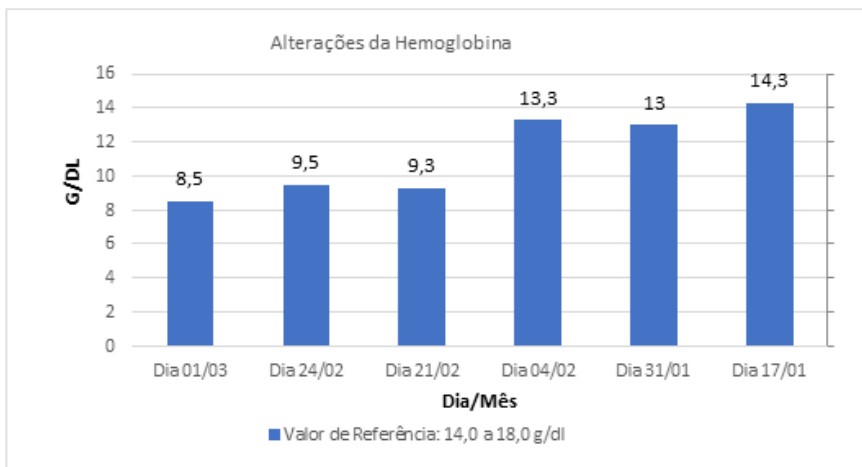


Gráfico 4. Alterações da Hemoglobina de janeiro a março.

Fonte: Dados da pesquisa (2020).

Assim como também, houve comprometimento do hematócrito do paciente. Essa disfunção pode ocasionar modificações fisiológicas, dentre elas, alterações cardiovasculares, como aumento do débito cardíaco, hipertrofia ventricular, insuficiência cardíaca, disfunção cognitiva, e disfunção neuromuscular por exemplo (Gráfico 5).

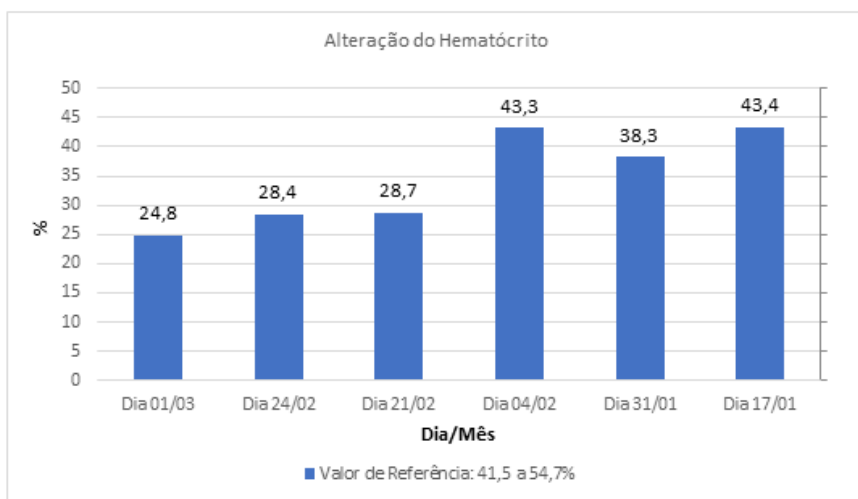


Gráfico 5. Alteração do Hematócrito de Janeiro a Março.

Fonte: Dados da pesquisa (2020).

Em uma análise do gráfico 6- Alteração da Global de Leucócitos de Janeiro a Março, o paciente apresentou oscilação da global de leucócitos, ora apresentando uma leucopenia, ora apresentando uma leucocitose, variando de 2.100 /mm³ a 14.400/mm³(valor de referência: 3.500 a 11.000/mm³). Em uma relação de neutrófilos, linfócitos e bastonetes, foi analisado uma neutrofilia e linfopenia durante os meses.

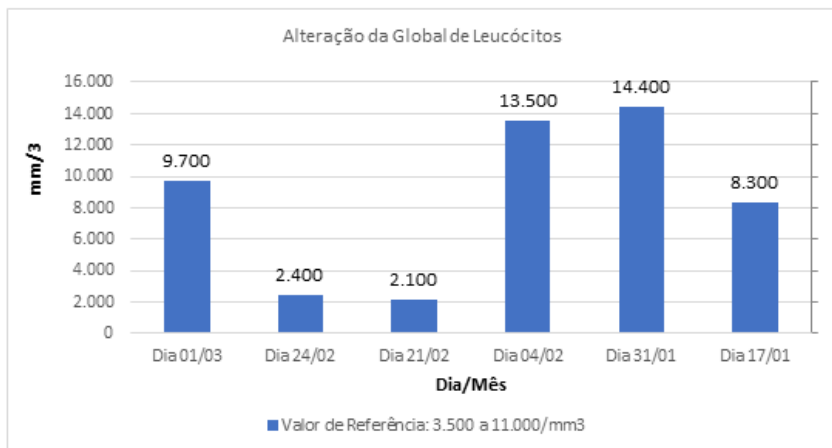


Gráfico 6- Alteração da Global de Leucócitos de Janeiro a Março.

Fonte: Dados da pesquisa (2020).

Em uma análise do gráfico 7- Alteração das plaquetas de janeiro a março é possível observar uma oscilação constante entre os meses, observado uma trombocitopenia e plaquetas normais, variando de 88.000 a 154.000(valor de referência: 130.000 a 450.000/mm³).

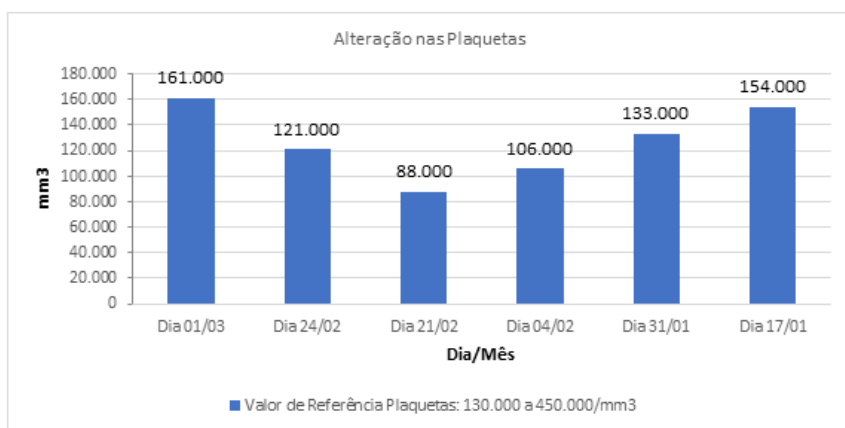


Gráfico 7- Alteração das plaquetas de janeiro a março.

Fonte: Dados da pesquisa (2020).

Em uma análise bioquímica houve pequenas alterações nos eletrólitos (cloreto, potássio e sódio, magnésio e fósforo), e elevações no resultado de PCR (proteína C reativa). Assim como uma alteração das escórias nitrogenadas. Na gasometria apresentou acidose mista. Em uma análise da tabela 1- Resultado de bactérias positivas de janeiro a março de 2020, mostra a confirmação de resultados microbiológicos do paciente.

Dia/Mês	Material	Bactéria	Característica (Gram)
31/01	urina	<i>Proteus sp</i>	Gram negativo
21/02	fezes	<i>Clostridium difficile</i>	Gram positivo
28/02	Sonda vesical	<i>Klebsiela sp</i>	Gram negativa
04/03	Secreção traqueal	<i>Serratia sp</i>	Gram negativa

Tabela 1- Resultado de bactérias positivas de janeiro a março de 2020.

Fonte: Dados da pesquisa (2020).

CONCLUSÃO

A sepse é um problema de saúde pública mundial e o Brasil faz parte desse cenário. Vários estudos realizados demonstram que a sepse acarreta diversos prejuízos ao paciente. Diante do estudo de caso único desenvolvido, espera-se que este trabalho promova o auxílio para diversos profissionais de saúde para o diagnóstico mais rápido possível da sepse, proporcionando para a equipe hospitalar uma melhor elaboração e execução para o atendimento em conjunto de um paciente já debilitado com as possíveis características e sintomas da doença.

Nessa pesquisa, pode-se analisar através da observação do paciente estudado e através de artigos científicos, o quanto a sepse pode se tornar agravante. Tanto por problemas de falta de utensílios laboratoriais como reagentes ou ausência de meios de cultura, assim como também a precariedade da UTI, e materiais de meios de trabalho da enfermagem. Outro fator que também afeta o paciente é a demora para o diagnóstico de sepse.

Contanto, sabe-se o quanto é necessário o domínio do auxílio imediato pelos profissionais de saúde, tanto da parte médica, triagem e laboratorial, sendo necessário da parte clínica a implantação de protocolos únicos de sepse, podendo assim favorecer fatores amenizantes para uma possível sepse mais agravante.

Conclui-se assim, que a sepse é uma disfunção de alto risco não só para os pacientes imunossuprimidos, mas como também para outras classes de pessoas no qual podem desenvolver a sepse. A prior, a sepse possui uma maior prevalência em países em desenvolvimento, sendo cerca de mais de 80%, segundo estudos desenvolvidos pela revista americana, onde o autor Fleischman faz uma avaliação de sepse no mundo.

Os exames laboratoriais são de extrema importância para o auxílio de diagnóstico da sepse, sendo estes de grande valia para indício de alguma disfunção nos órgãos e

sistemas, e até mesmo para identificação bacteriana, assim como a liberação dos devidos antibióticos específicos para o tratamento da sepse.

A prevenção e cuidados rotineiros com a saúde é a melhor forma de evitar essa patologia, sendo estes por meio de avaliações e consultas clínicas, e realizações de Check-up de exames laboratoriais. Dessa forma, reduzem-se as chances para o surgimento da sepse, sendo esta, podendo ocorrer até mesmo através de uma pequena infecção bacteriana no trato urinário por exemplo. Em razão da relevância do tema, torna-se imprescindível a importância que este estudo seja aprofundado ou seja dado um contínuo no referido assunto, como também, a reavaliação dos protocolos hospitalares iniciais e posteriores das atividades desenvolvidas pela equipe desde a recepção, até mesmo pelos serviços dos profissionais de saúde.

APOIO FINANCEIRO

Apoio realizado pela instituição de origem do laboratório hospitalar FOB- Hospital Fundação Ouro Branco, onde obteve a colaboração de coleta de dados para o estudo de caso único.

REFERÊNCIAS

Barros, L.; Maia, C.; Monteiro, M. Fatores de risco associados ao agravamento de sepse em pacientes em Unidade de Terapia Intensiva. *Cad. Saúde Colet.*, 2016, Rio de Janeiro, 24 (4): 388-396

Daniel Zoppi. Médico Assistente da Divisão de Emergências Clínicas do Departamento de Clínica Médica da FMRP/USP, **Sepse e choque séptico na emergência**, 2017

FLEISCHMANN, Carolin et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. Current estimates and limitations. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 193, n. 3, p. 259-272, 2016

GARRIDO, Felipe et al. Ações do enfermeiro na identificação precoce de alterações sistêmicas causadas pela sepse grave. **ABCS Health Sciences**, v. 42, n. 1, 2017.

Instituto Latino-Americano para Estudos da Sepse (ILAS), **IMPLEMENTAÇÃO DE PROTOCOLO GERENCIADO DE SEPSEPROTOCOLO CLÍNICO**. Revista Eletrônica, 2018. Acesso em: 07/04/2020

Instituto Latino-Americano para Estudos da Sepse (ILAS), **Sepse: um problema de saúde pública**. Revista Eletrônica, p. 19-25,2015. Acesso em: 27/02/2020

PERIN, Christiano et al. Epidemiologia e perfil de sensibilidade dos germes isolados de hemoculturas de pacientes hematológicos com neutropenia febril. **Clinical&BiomedicalResearch**, v. 26, n. 1, 2006.

SILVEIRA, S.R., FERREIRA, L.F.L. e LAGE, M.H.H. **Fisiopatologia da sepse: revisão de literatura**. PUBVET, Londrina, V. 8, N. 9, Ed. 258, Art. 1709, Maio, 2014

TORTORA, Gerard J.; CASE, Christine L.; FUNKE, Berdell R. **Microbiologia-12ª Edição**. Artmed Editora, 2016.

CAPÍTULO 10

BIOPROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS ISOLADAS NO MANGUEZAL DO LITORAL DO PARANÁ: ESTUDO PRELIMINAR

Data de aceite: 01/09/2021

Cláudia Cristina da Conceição Munhoz

Laboratório de Genética Molecular e de Microbiologia. - LAGEM UNESPAR/*Campus* de Paranaguá
<http://lattes.cnpq.br/1219710918673489>

Matheus Sampaio de Araujo

Laboratório de Genética Molecular e de Microbiologia. - LAGEM UNESPAR/*Campus* de Paranaguá
<http://lattes.cnpq.br/7499217994040878>

Juciane Modesto dos Santos

Laboratório de Genética Molecular e de Microbiologia. - LAGEM UNESPAR/*Campus* de Paranaguá
<http://lattes.cnpq.br/4706635899196272>

Caroline Alves Cordeiro

Laboratório de Genética Molecular e de Microbiologia. - LAGEM UNESPAR/*Campus* de Paranaguá
<http://lattes.cnpq.br/9715424923474294>

Camila Souza Almeida dos Santos

Laboratório de Biotecnologia. Departamento de Ciência e Tecnologia Ambiental. UTFPR/*Campus* de Curitiba
<http://lattes.cnpq.br/6886353427655648>

Kassiely Zamarchi

Laboratórios técnicos – bloco 4. UTFPR/*Campus* Umuarama
<http://lattes.cnpq.br/4644978252569278>

Nigella Mendes de Paula

Departamento de Bioquímica. UFPR/*Campus* Centro Politécnico
<http://lattes.cnpq.br/3375833578817198>

Gabriela Xavier Schneider

Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia na Universidade Federal do Paraná
<http://lattes.cnpq.br/1911503557488733>

Alessandra Tenório Costa

Laboratório de Genética Molecular e de Microbiologia. - LAGEM UNESPAR/*Campus* de Paranaguá
<http://lattes.cnpq.br/2230974314029794>

Danyelle Stringari

Laboratório de Genética Molecular e de Microbiologia. - LAGEM UNESPAR/*Campus* de Paranaguá
Programa de Pós-Graduação em Ambientes Litorâneos e Insulares UNESPAR/*Campus* de Paranaguá
<http://lattes.cnpq.br/6235127981805861>

Josiane Aparecida Gomes-Figueiredo

Laboratório de Genética Molecular e de Microbiologia. - LAGEM UNESPAR/*Campus* de Paranaguá
Programa de Pós-Graduação em Ambientes Litorâneos e Insulares UNESPAR/*Campus* de Paranaguá
<http://lattes.cnpq.br/4316737388104674>

RESUMO: A bioprospecção de bactérias caracteriza-se por ser promissora para a produção de metabólitos biotecnologicamente importantes, como destaque para as áreas de saúde, e para a biorremediação de poluição terrestre e aquática. Assim, 120 microrganismos isolados do manguezal com Complexo Estuarino

de Paranaguá foram avaliados quanto a capacidade degradativa de hidrocarbonetos por teste com indicadores como redox 2,6- diclorofenol indofenol (DCPIP) e redox 2,3,5-cloreto de trifeniltetrazólio (TTC), bem como para a produção de biossurfactantes. Os microrganismos estudados apresentaram atividade positiva para DCPIP (72,73% gram positivos e 27,27% negativos), blue ágar plate (29 isolados), colapso da gota (P189, P271, P3108, P3115 e P96 com atividade catiônica e A58 com aniônica), índice de emulsão (10) e escorrimento da gota (P100, P143, P278, P3 146, P3 347 e P350). A partir deste estudo foi possível evidenciar a importância da bioprospecção em bactérias isoladas de manguezais por apresentarem capacidade para produzir biossurfactantes e potencial para serem utilizados na biorremediação de locais contaminados com hidrocarbonetos de petróleo ou petroderivados.

PALAVRAS-CHAVE: Biossurfactante. Ramnolipídeos. Petróleo.

1 | INTRODUÇÃO

A bioprospecção busca encontrar microrganismos com atividade promissora na produção de metabólitos biotecnologicamente importantes nas áreas da saúde e ambiental (MA *et al.*, 2015). Sendo os microrganismos nativos fortes candidatos para a bioprospecção pois, em seus habitats de origem produzem compostos com diferentes atividades biológicas em resposta a estresses bióticos e abióticos, competição por recursos, variações nas condições físico-químicas de seus ecossistemas (OVERMANN *et al.*, 2017; SARAVANAN, RADHAKRISHAN, BALAGURUNTHAN, 2015).

Os manguezais são ambientes extremamente ricos, com grande importância para processos biológicos e para a manutenção do equilíbrio de ecossistemas (TIRALERDPANICH *et al.*, 2018; GIRI *et al.*, 2011). Entretanto, são ecossistemas que vêm sofrendo ao longo dos anos com a poluição, com as atividades antrópicas do seu entorno e o acúmulo de hidrocarbonetos de petróleo que resultam em contaminações ameaçando a biodiversidade (SANTOS *et al.*, 2011).

A contaminação do solo e de regiões costeiras pelos hidrocarbonetos de petróleo tem afetado diversos ambientes que abrigam uma vasta variedade de organismos (JÚNIOR *et al.*, 2014). Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) apresentam propriedades tóxicas, cancerígenas, teratogênicas, mutagênicas e de toxicidade persistente (BALACHANDRAN *et al.*, 2012). Em contrapartida, os hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos conhecidos como BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno) apresentam alta toxicidade mesmo em baixas concentrações e alto nível de solubilidade em água, os tornando poluentes com grande potencial para poluir o lençol freático (TRUSKEWYCZ *et al.*, 2019). Estes compostos podem acarretar o desenvolvimento de problemas de saúde, podendo variar desde irritação nos olhos, mucosas e pele, passando por enfraquecimento do sistema nervoso central, depressão da medula óssea, com propriedades mutagênicas e carcinogênicas (TRUSKEWYCZ *et al.*, 2019).

O tratamento de solos contaminados por petróleo e seus derivados pode ocorrer pela remediação química, física ou biorremediação (CHANDRA *et al.*, 2013). Entre tanto,

os processos convencionais baseados em métodos químico-físico apresentam alto custo para serem implantados em grande escala, eficiência limitada e muitas vezes resultam em outro tipo de poluição (VARJANI, 2017). Na biorremediação os microrganismos mitigam, degradam ou reduzem os poluentes orgânicos perigosos sem afetar adversamente o meio ambiente sendo a biodegradação um dos principais mecanismos (SINGH *et al.*, 2010).

Os biossurfactantes produzidos por microrganismos como metabólitos bioativos secundários podem apresentar grande potencial biotecnológico pois podem ser utilizados na despoluição de oceanos e praias em virtude de derramamento de óleo e na remediação do solo ou dos poluentes ambientais advindos de produtos de refinaria (querosene, gasolina, óleo diesel, benzeno, tolueno), pesticidas e metais pesados como o cádmio (SHARMA *et al.*, 2019).

Dentre os microrganismos empregados para processos de biorremediação, destacam-se as bactérias pois as mesmas dispõem grande potencial industrial devido aos seus benefícios no crescimento bacteriano e fácil manipulação dos parâmetros de crescimento em experimentos laboratoriais (MORAIS *et al.*, 2012). As bactérias podem ser utilizadas tanto na produção de biossurfactantes (MÉNDEZ *et al.*, 2017) como depuradores de poluentes de hidrocarbonetos (MA *et al.*, 2015) destacando-se os gêneros *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Halononas*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Proteus* entre outros.

Este estudo teve como objetivo a bioprospecção de bactérias isoladas de manguezais do litoral do Paraná quanto a capacidade degradativa de hidrocarbonetos por teste com indicadores redox 2,6-diclorofenol indofenol (DCPIP) e redox 2,3,5-cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) além da triagem para a produção de biossurfactantes.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Microrganismos

A bioprospecção das bactérias seguiu etapas distintas representadas na figura 1. As 120 colônias de bactérias utilizadas foram isoladas de manguezais do litoral do Paraná e pertencem à Coleção de Cultura do Laboratório de Genética Molecular e Microbiologia (LAGEM) da UNESPAR - *Campus* de Paranaguá. O processo de purificação dos isolados foi realizado por meio da técnica de esgotamento por estrias em placas de Petri contendo meio Ágar nutriente e posterior observação microscópica por meio da coloração de Gram a fim de separá-las em grandes grupos. Os ensaios foram randomizados sob a condição cega (*blinded*) realizados em triplicata para avaliação visual na mudança de coloração de cada placa nos intervalos de 24 e 48 horas.

Para a determinação da capacidade de degradação de petróleo e derivados foram utilizadas microplacas de 96 cavidades. A fonte de carbono utilizada no experimento foi petróleo bruto cedido pela Petrobrás (BR). Cujas composição apresentava 26% Petróleo

Nigeriano, 21% Petróleo do Pré-Sal e 53% Petróleo da Bacia de Campos. Para a realização dos testes de DCPIP e TCC foram utilizadas 110 colônias bacterianas.

Uma vez realizado o *screening* para o potencial de degradação e capacidade de produção de biossurfactantes, os microrganismos bacterianos que apresentarem potencial foram selecionados para a realização de testes bioquímicos seguindo a chave de identificação descrita por Carter (1994), Barrow e Feltham (1993) e Holt e Bergey (1994), adaptada.

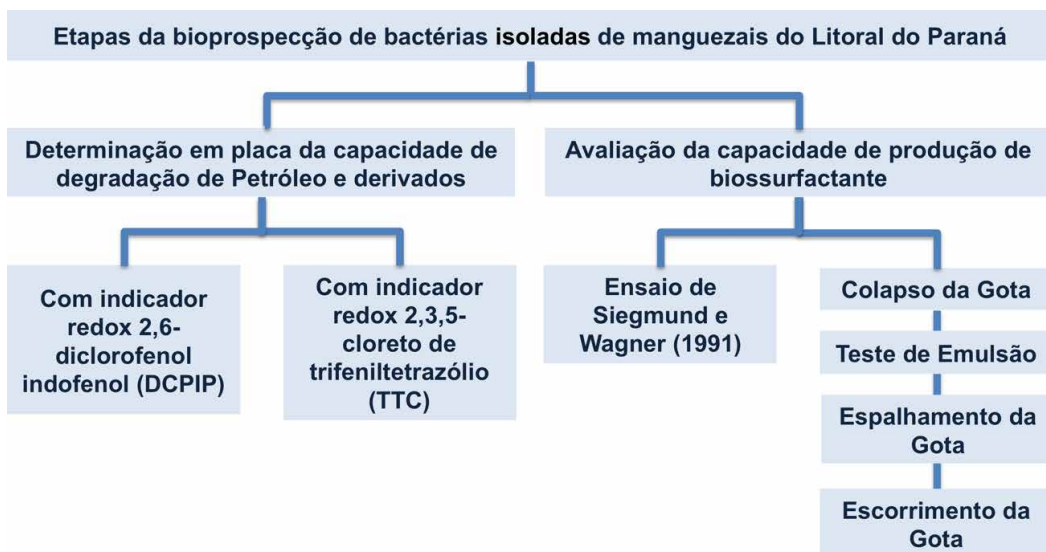


Figura 1: Etapas de bioprospecção de bactérias

2.2 Determinação em placa da capacidade de degradação de hidrocarbonetos de petróleo

a) Indicador Redox 2,6-diclorofenol indofenol (DCPIP)

O teste foi realizado com usando meio mineral num volume reacional final de 200 μL (adaptado de HANSON *et al.*, 1993; BIDOIA *et al.*, 2010). Nos poços de 1 a 8, como substrato, foi adicionado 10 μL petróleo e nos poços de 9 a 12 foram adicionados 10 μL da solução de glicose. Em seguida foram adicionados 20 μL de meio contendo os microrganismos, com exceção dos poços 1, 5 e 9, usados como controle. Posteriormente, foi adicionado 12 μL de DCPIP em todos os poços. A placa foi recoberta com papel alumínio para evitar a foto-oxidação do indicador, em seguida submetidas à agitação de 120 rpm, a 32 °C, durante 72h.

b) Indicador redox 2,3,5-cloreto de trifeniltetrazólio (TTC)

A avaliação foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Braddock e Catteral (1999) para os isolados que apresentaram resultados positivos no teste com indicador DCPIP. Em cada poço da placa foram adicionados 150 μL de meio mineral (adaptado de HANSON *et al.*, 1993; BIDOIA *et al.*, 2010) acrescido de 20% de TTC. Foi adicionado petróleo a 5% (poços 1 a 4), 10 % (poços 5 a 8), e 15% (poços 9 a 12), respectivamente. Uma alíquota de 50 μL com suspensão bacteriana ($1,5 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹) foi adicionada em cada poço, exceto em 1, 5 e 9, que foram utilizados como controle. As placas foram cobertas para evitar a foto-oxidação do indicador e resultados falso positivos e submetidas a agitação contínua a 120 rpm, a 32 °C para avaliação visual na mudança de coloração de cada amostra nos intervalos de 24, 48 e 72 horas.

2.3 Avaliação da capacidade de produção de biossurfactante:

A triagem foi avaliada qualitativamente usando diferentes métodos, nomeadamente: a) teste blue ágar Plate (SIEGMUND E WAGNER, 1991); b) Colapso da Gota (BORDOUR E MILLER-MAIR, 1998); c) Índice de Emulsão (FRANCY *et al.*, 1991); d) Espalhamento da Gota (MORKAWA *et al.*, 2000) e e) Escorrimento da Gota (PEERSON e MOLIN 1987).

3 | RESULTADOS

3.1 Determinação em placa da capacidade de degradação de hidrocarbonetos de petróleo

Entre os 110 isolados testados na triagem primária utilizando DCPIP, destes 33 aprontaram um maior destaque com resultados positivos indicando potencial para degradação, destes 72,73% foram identificados como gram positivos e 27,27% como negativos. Os 33 isolados que obtiveram resultado positivo com relação ao teste do DCPIP foram testados com TTC, devido ao fato de apresentarem maior probabilidade de serem promissores. Entre tanto, apresentaram resultados negativos para o teste do TTC.

3.2 Avaliação da capacidade de produção de biossurfactante:

a) Blue ágar plate

No teste 29 isolados indicam a atividade positiva de produção de biossurfactante aniônico mediante observação da presença da formação do halo azul escuro ao redor da colônia, destes 62,07% são gram positivos e os demais (37,93%) gram negativos, respectivamente. Os isolados P100, P180, P194, P205, P256, P278, P3102 e P91 apresentaram resultados positivos também para o teste DCPIP.

b) Colapso da Gota

As soluções com meio de cultura com crescimento bacteriano (solução A) e o sobrenadante (solução B) quando colocados nas superfícies sólidas revestida de óleo mineral e óleo diesel formaram gotas que se espalham ou mesmo colapsaram porque a força ou tensão interfacial entre a gota de líquido e a superfície hidrofóbica é reduzida, indicando a presença de surfactante (Tabela 1). Foram obtidos resultados com forte atividade catiônica e aniônica, destacando-se os isolados P189, P271, P3 108, P3 115 e P96 com atividade catiônica e A58 com aniônica para todos os testes de colapso da gota em ambas as soluções. Além destes terem apresentado positivo também para o teste ágar blue.

Atividade	CTAB				SDS			
	Óleo Mineral		Óleo Diesel		Óleo Mineral		Óleo Diesel	
	Sol A	Sol B	Sol A	Sol B	Sol A	Sol B	Sol A	Sol B
Nenhuma	65,00	52,50	0,00	0,00	68,33	67,50	1,67	0,00
Fraca	5,83	13,33	0,00	0,00	4,17	12,50	1,67	2,50
Moderada	3,33	2,50	0,00	2,50	3,33	3,33	0,00	1,67
Forte	21,67	27,50	100,00	97,50	20,00	10,00	96,67	95,83
NA	4,17	4,17	0,00	0,00	4,17	6,67	0,00	0,00

OBS: Resultados expressos em %. NA. Não avaliados

Tabela 1: Avaliação do colapso da gota para atividade surfactante catiônico e aniônica.

d) Índice de Emulsão (IE)

A emulsificação em querosene de cada cepa não foi igual para todos os isolados bacterianos. Dos 120 avaliados, apenas 10 destacaram-se com atividade superior a 50% determinado após 24 horas. Com tudo, foi possível averiguar que 6 apresentaram estabilidade de emulsão após 72 horas (Figura 2). O isolado P278, apesar de apresentar índice de emulsão de 50% mantivesse estável depois de 72 horas e apresentou também atividade forte no teste do blue ágar plate.

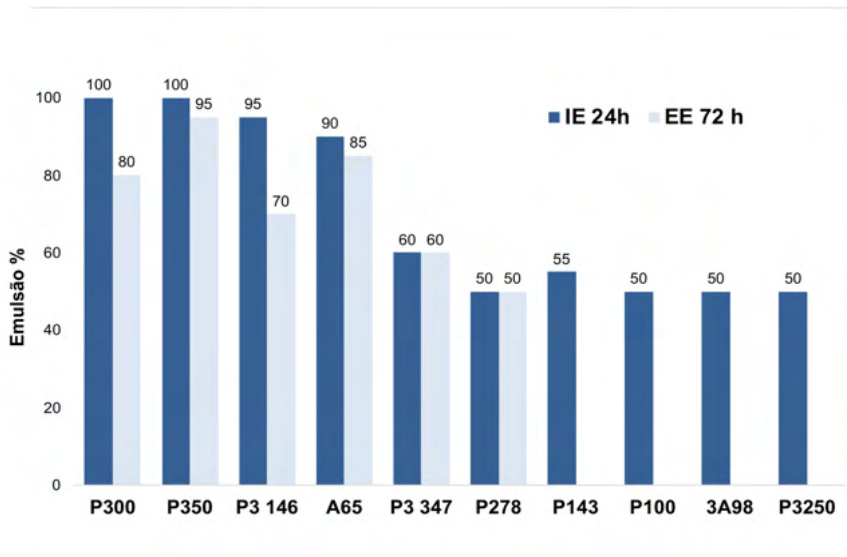


Figura 2: Índice de Emulsão (IE24) e Estabilidade da Emulsão (EE72).

e) Espalhamento e escorrimento da Gota

Os isolados que apresentaram índice de emulsão superior a 50% foram avaliados pelo teste de espalhamento da gota. Entretanto em nenhum deles foi possível observar a abertura halo após 60 segundos. Quando comparado ao controle positivo (Tween 80) o halo foi aberto após 40 segundos. Em contra partida, no teste do escorrimento da gota em lâmina de vidro os isolados P100, P143, P278, P3 146, P3 347 e P350 apresentaram resultados positivos.

4 | DISCUSSÃO

A biodegradação é um procedimento que utiliza microrganismos a fim de degradar a matéria contaminada, a transformando em compostos que possuem baixo peso molecular e de baixa periculosidade, tornando-se uma das melhores soluções para redução da poluição ambiental que é causada por grande parte vinda de recursos de hidrocarbonetos de petróleo (SINGH *et al.*, 2010).

A utilização do indicador DCPIP pode detectar com sensibilidade e de forma qualitativa, a oxidação primária de hidrocarbonetos, sendo considerada uma técnica adequada para investigar isolados com potencial degradação de petróleo (SELVAKUMAR *et al.*, 2014). Com a incorporação de um aceptor de elétrons como o DCPIP é possível determinar se o microrganismo utiliza o hidrocarboneto como substrato observando a mudança da cor azulada deste indicador, no estado oxidado, para incolor, seu estado reduzido (INIOMBONG *et al.*, 2018; BALOGUN *et al.*, 2015; BIDOIA *et al.*, 2010).

Bacillus subtilis, *Serratia odorifera*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus agilis*, *Flavobacterium aquatile* e *Micrococcus luteus* foram avaliadas como eficientes na hidrocarbonetos de petróleo utilizando o teste colorimétrico do DCPIP (INIOBONG *et al.*, 2018). Assim como, espécies de *Bacillus* e *Pseudomonas* reportadas por Selvakumar *et al.* (2014) utilizando o mesmo teste.

O TTC pode ser utilizado como um método colorimétrico da atividade de muitas enzimas desidrogenase (DHA). A reação de redução, pela desidrogenase, a trifenil formazan (TPF) apresenta uma cor avermelhada característica. Estudos indicam que a atividade das desidrogenases nos processos oxidativos das células microbianas reflete a bioatividade geral de uma grande parte da população microbiana, o que permite seu emprego como medida de atividade biológica (ABBONDANZI *et al.*, 2003). Dos 33 isolados que apresentaram resultados positivos no teste DCPIP foram negativos para o TTC. Entretanto, conforme sugerem Ljesevic *et al.* (2019) a atividade da desidrogenase pode ser usada como teste complementar para verificar se os microrganismos examinados toleram apenas HPAs ou usam metabolicamente como únicas fontes de carbono.

Os biossurfactantes são capazes de reduzir a tensão superficial e atuar diretamente como emulsificantes, ganhando maior atenção nas últimas décadas, devido às suas propriedades exclusivas, como alta biodegradabilidade, menor toxicidade e melhor estabilidade (MARTINHO *et al.*, 2019; SHARMA *et al.*, 2019). Neste contexto, a bioprospecção de bactérias para produção de biossurfactantes vem sendo utilizada na reparação dos danos ambientais, como processos de biorremediação, lavagem do solo, dentre outros (PENG *et al.*, 2012; MÜLLER *et al.*, 2012; SATPUTE *et al.*, 2020)

O teste Blue Ágar Plate é um método qualitativo, rápido e específico que pode ser utilizado na bioprospecção de biossurfactantes do tipo glicolipídeos. O mesmo baseia-se na formação de um par de íons insolúveis de surfactantes aniônicos secretados pelos microrganismos em placa com o surfactante catiônico CTAB presente na placa, que na presença do corante azul de metileno forma um precipitado azul escuro ao redor das colônias produtoras do tensoativa (SIEGMUND e WAGNER, 1991). Os isolados que mostraram atividade positiva indicam presença de biossurfactante aniônico extracelular.

Os testes de colapso de gota (BORDOUR e MILLER-MAIR, 1998), espalhamento da gota (MORKAWA *et al.*, 2000) e escorrimento da gota (PEERSON e MOLIN, 1987) avaliam a atividade tensoativa do biossurfactante. No teste de colapso de gotas, uma gota de suspensão de células ou de sobrenadante de cultura é colocada em uma superfície sólida revestida de óleo. Se o líquido não contiver surfactantes, as moléculas de água polar são repelidas da superfície hidrofóbica e as gotas permanecem estáveis. Ao contrário, se o líquido contiver surfactantes, as gotas se espalham ou mesmo colapsam porque a força ou tensão interfacial entre a gota do líquido e a superfície hidrofóbica é reduzida (WALTER *et al.*, 2010). A estabilidade das gotas depende da concentração do surfactante e se correlaciona com a tensão superficial e interfacial (VARJANI, 2017).

Para o teste de colapso da gota foram utilizados o óleo diesel e o mineral, isso porque o óleo diesel têm sido o combustível mais consumido no Brasil, devido à sua grande utilização no transporte rodoviário e na comercialização de combustíveis para grandes embarcações marítimas. Em contra partida, o óleo mineral engloba uma mistura de petróleo composta principalmente por hidrocarbonetos saturados contendo entre 15 a 50 átomos de carbono que apresenta toxicidade e baixa biodegradabilidade (EFSA, 2012). Além disso, a utilização de duas soluções diferentes (A e B) contribui para a verificação resultados diferentes de degradação para óleos com cadeias carbônicas distintas. Conforme destacam Safary *et al.* (2010), os isolados que liberam biossurfactantes no meio de cultura são interessantes do ponto de vista industrial, pois o processo de recuperação do produto pode ser simplificado.

Para o teste de espalhamento da gota (MORIKAWA *et al.*, 2000) procura verificar a atividade tensoativa do biossurfactante pelo halo formado no espelhamento da gota sobre o óleo diesel na qual a medida do diâmetro da zona de abertura do halo em cm está relacionada com a concentração de biossurfactante presente no meio (WALTER *et al.*, 2010). Entretanto conforme destacam Nitschke e Pastore (2002), isolados que apresentam coalescência, um mecanismo de destruição de emulsões, não pode ser caracterizado como resultado negativo pois alguns biossurfactantes apesar de não manterem a sua estabilidade suportam concentrações salinas mais elevadas, uma propriedade importante quando se considera a biorremediação de ambientes salinos.

O teste do escorrimento da gota em lâmina de vidro é complementar ao de colapso e espalhamento da gota para verificar a atividade tensoativa do biossurfactante podendo ser considerada como uma modificação destas pois apresentam-se como pouco sensíveis para biossurfactantes que possuem baixa atividade tensoativa (SATPUTE *et al.*, 2020; VARJANI, 2017).

A emulsificação é um processo que forma um líquido, conhecido como emulsão, contendo gotículas muito pequenas de gordura ou óleo suspensas em um fluido, geralmente água (VARJANI, 2017). O índice de emulsão (IE24) é um método de triagem simples que avalia a capacidade de produção de biossurfactante correlacionando com a concentração utilizado para a triagem inicial de muitos microrganismos (WALTER *et al.*, 2010).

Espécies de *P. aeruginosa* tem se destacado na literatura por excretar compostos iônicos que emulsificam hidrocarbonetos que podem ser usadas para recuperação microbiológica avançada de petróleo – do inglês MEOR (Microbial enhanced oil recovery) (BROWN, 2010; SHARMA *et al.*, 2015). A MEOR baseia-se na versatilidade metabólica dos microrganismos para sintetizar gases, ácidos ou biossurfactantes que são úteis para melhorar a recuperação de óleo (NIU *et al.*, 2020; KHIRE, 2010).

Os biossurfactantes de alto peso molecular são emulsionantes eficientes e frequentemente aplicados como um aditivo para estimular a biorremediação e a remoção de substâncias oleosas dos ambientes (SAPTUTE *et al.*, 2020). Porém, os resultados

na diminuição da tensão superficial e a capacidade de emulsificação nem sempre se correlacionam e conseqüentemente, esse método dá apenas uma indicação sobre a presença de biossurfactantes (SANTOS *et al.*, 2011).

Além da avaliação do IE_{24} , a estabilidade da emulsão (EE_{72}) avaliada após 72 horas também foi considerada neste estudo pois a estabilidade da emulsão tem sido usada como um critério importante para as aplicações industriais (SHARMA *et al.*, 2015). Cepas bacterianas de *Lactobacilos acidophilus* e *Enterococcus faecium* foram isoladas e rastreadas para agentes tensoativos usando ensaio de colapso de gota e avaliação do índice e estabilidade da emulsão (SHARMA *et al.*, 2015).

É importante considerar que a atividade emulsificante do biossurfactante depende da cepa produtora e das condições de cultura, tais como a natureza da fonte de carbono, as limitações nutricionais e os parâmetros químicos e físicos, como temperatura, aeração, cátions divalentes e pH. Tais fatores influenciam não apenas a quantidade do biossurfactante produzido, mas também o tipo de polímero que será produzido (KHIRE, 2010).

Comparando os testes de emulsificação e de tensão pode-se ter uma ideia de que o biossurfactante proveniente do isolado P300 (Figura 2) apresenta alto peso molecular, com principal propriedade a emulsão, justificando os resultados praticamente inalterados de tensão superficial. Bem como os isolados P100 e P278 que não apresentaram resultados expressivos para teste de emulsão, no entanto evidenciou serem positivos no teste DCPI e blue ágar plate simultaneamente.

Além das propriedades físico-químicas avaliadas, os biossurfactantes comercialmente viáveis devem ser economicamente competitivos (SAPTUPE *et al.*, 2020). Portanto, etapas subsequentes de triagem para avaliação de eficácia e técnicas de purificação aprimoradas desempenham um papel vital para obter a qualidade e a quantidade desejadas de boas cepas com altos rendimentos.

Adicionalmente, ferramentas moleculares também podem ser utilizadas para identificar genes produtores de biossurfactantes e/ou envolvidos na síntese da degradação de hidrocarbonetos do petróleo (LIMA *et al.*, 2020).

5 | CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam a importância da bioprospecção em bactérias isoladas de manguezais provenientes do Complexo Estuarino de Paranaguá PR pois as mesmas apresentam capacidade para produzir biossurfactantes e potencial para serem utilizados na biorremediação de locais contaminados com hidrocarbonetos de petróleo ou derivados. Com tudo, faz-se necessário realizar estudos de caracterização desses microrganismos promissores para possíveis aplicações na biorremediação e produção de biossurfactantes.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

A coleção de isolados bacterianos utilizados neste estudo está devidamente cadastrada no SisGen, de acordo com a Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Gomes-Figueiredo concebeu a ideia e supervisionou o trabalho. Stringari juntamente com Santos, Zamarchi, de Paula e Schneider realizaram o isolamento de microrganismos em manguezais do litoral do Paraná. Santos e Cordeiro determinaram a capacidade de degradação de hidrocarbonetos de petróleo. Munhoz e Araujo avaliaram a capacidade de produção de biossurfactantes. Munhoz e Costa escreveram o manuscrito com apoio de Gomes-Figueiredo. Todos os autores discutiram os resultados e contribuíram para o manuscrito final.

REFERÊNCIAS

ABBONDANZI, F.; CACHADA, A.; CAMPISI, T.; GUERRA, R. R.; RACCAGNI, M.; IACONDINI A.

Optimisation of a microbial ecotoxicological bioassay for contaminated soil monitoring: bacterial inoculum standardisation. *Chemosphere.* v. 53, n. 8, p. 889-897, 2003.

BALACHANDRAN, C.; DURAI PANDIYAN, V.; BALAKRISHNA, K.; IGNACIMUTHU, S. **Petroleum and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) degradation and naphthalene metabolism in *Streptomyces* sp. (ERI-CPDA-1) isolated from oil contaminated soil.** *Bioresour Technol.* v. 112, p. 83-90, 2012.

BALOGUN, S. A.; SHOFOLA, T. C.; OKEDEJI, A. O.; AYANGENRO, A. S. **Screening of hydrocarbonoclastic bacteria using redox indicator 2,6-dichlorophenol indophenol.** *Global Nest.* v. 17, n. 3, p. 565-573, 2015.

BARROW, G. I.; FELTHAM, R. K. A. **Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria.** Cambridge University. v. 1, p. 331- 975, 1993.

BIDOIA, E. D.; R. N.; MONTAGNOLLI AND LOPES, P. R. M. **Microbial biodegradation potential of hydrocarbons evaluated by colorimetric technique: a case study.** In A. Mendez-Vilas (ed.), *Current Research, Technology and Education. Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotrechnology.* p. 1277- 1288, 2010.

BORDOUR, A. A.; MILLER-MAIER, R. M. **Application of a modified drop collapse technique for surfactante quantitation and screening of biosurfactant-producing microorganisms.** *Journal of Microbiological Methods.* v. 32, n. 3, p. 273-280, 1998.

BRADDOCK, J. F.; CATTERALL, P. H. **A simple method for enumerating gasoline and diesel-degrading microorganisms.** *Bioremediation Journal.* v. 3, n. 2, p. 81- 84, 1999.

BROWN, L. R. **Microbial enhanced oil recovery (MEOR).** *Current Opinion in Microbiology.* v. 13, n. 3, p. 316-320, 2010.

CARTER, M. E.; QUINN, P. J.; MARKEY, B.; CARTER, G. R. ***Staphylococcus species***. In: Clinical Veterinary Microbiology. Edinburgh: Mosby Elsevier, p. 118, 1994.

CHANDRA, S.; SHARMA, R.; SINGH, K.; SHARMA, A. **Application of bioremediation technology in the environment contaminated with petroleum hydrocarbon**. Annals Microbiology. v. 63, p. 417-431, 2013.

EFSA. **Scientific Opinion on mineral oil hydrocarbons in food**. EFSA Journal. v. 10, p. 2704, 2012.

FRANCY, D. S.; THOMAS, J. M.; RAYMOND, R. L.; WARD, C. H. **Emulsification of hydrocarbon by surface bacteria**. Journal of Industrial Microbiology. n. 8, p. 237- 246, 1991.

GIRI, C.; OCHIENG, E.; TIESZEN, L. L.; ZHU, Z.; SINGH, A.; LOVELAND, T.; MASEK, J.; DUKE, N. **Status and distribution of mangrove forests of the world using Earth observation satellite data**. Global Ecology and Biogeography. v. 20, n. 1, p. 154-159, 2011.

HANSON, K. G.; DESAI, J. D.; DESAI, A. J. **A rapid and simple screening technique for potential crude oil degrading microorganisms**. Biotechnology Techniques. v. 7, p. 745– 748,1993.

HOLT, J. G.; BERGEY, D. H. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. Williams & Wilkins, Baltimore, 1994.

INIOBONG, I. J.; ALPHONSUS, I. A.; SATURDAY, A. P.; GODWIN, B. M.; UTIBE, E. C.; ANTHONY, U. E. **Screening for hydrocarbon degrading bacteria using redox indicator 2, 6-dichlorophenol indophenol**. Chemical and Biomolecular Engineering. v. 3, n. 2, p. 11-16, 2018.

JÚNIOR, J. T. A.; CAMPOS, T. M. P.; PIRES, P. J. M. **Sediment characteristics of an impacted coastal bay: Baía de Guanabara, Rio de Janeiro, Brazil**. Journal of Coastal Research. v. 71, p. 41-47, 2014.

KHIRE, J. M. **Bacterial biosurfactants, and their role in microbial enhanced oil recovery (MEOR)**. Biosurfactants. p. 146-157, 2010.

LIMA, S. D.; OLIVEIRA, A. F.; GOLIN, R.; LOPES, V. C. P.; CAIXETA, D. S.; LIMA, Z. M.; MORAIS, E. B. **Isolation and characterization of hydrocarbon-degrading bacteria from gas station leaking-contaminated groundwater in the Southern Amazon, Brazil**. Brazilian Journal of Biology. v. 80, n. 2, p. 354-361, 2020.

LJESEVIC, M.; MILIC, J.; GOJGIC-CVIJOVIC, G.; SOLEVIC KNUDSEN, T.; ILIC, M.; AVDALOVIĆ, J.; VRVIC, M. **Evaluation of assays for screening polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading potential of bacteria**. Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly. v. 26, n. 1, p. 41- 48, 2019.

MA, J.; YAN, G.; MA, W.; WANG, Q.; GUO, S. **Isolation and characterization of oil degrading microorganisms for bench-scale evaluations of autochthonous bioaugmentation for soil remediation**. Water, Air, & Soil Pollution. p. 226-272, 2015.

MARTINHO, V.; LIMA, S. L. M.; BARROS, C. A.; FERRARI, V. B.; PASSARINI, M. R. Z.; SANTOS, L. A.; DE VASCONCELLOS, S. P. **Enzymatic potential and biosurfactant production by endophytic fungi from mangrove forest in southeastern Brazil**. AMB Express. v. 9, p. 1, 2019.

MÉNDEZ, V.; FUENTES, S.; MORGANTE, V.; HERNÁNDEZ, M.; GONZÁLEZ, M.; MOORE, E.; SEEGER, M. **Novel hydrocarbon clastic metal-tolerant *Acinetobacter* and *Pseudomonas* strains from Aconcagua River oil-polluted soil.** Journal of Soil Science and Plant Nutrition. v. 17, n. 4, 2017.

MORAIS, R. K. S.; ABUD, A. K. S. **Use of biosurfactants from agro-industrial residues in the bioremediation of oil.** Scientia Plena. v. 8, n. 10, 2012.

MORIKAWA, M.; HIRATA, Y.; IMANAKA, T. **A study on the structure-function relationship of lipopeptide biosurfactantes.** Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids. v. 1488, n. 15, p. 211-218, 2000.

MÜLLER, M. M.; KUGLER, J. H.; HENKEL, M.; GERLITZKI, M.; HORMANN, B.; POHNLEIN, M.; SYLDATK, C.; HAUSMANN, R. **Rhamnolipids-next generation surfactants.** Journal of Biotechnology. v. 162, n. 4, p. 366-380, 2012.

NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. **Biosurfactants: properties and applications.** Química Nova. v. 25, n. 5, p. 772-776, 2002.

NIU, J.; LIU, Q.; LV, J.; PENG, B. **Review on microbial enhanced oil recovery: Mechanisms, modeling and field trials.** Journal of Petroleum Science Engineering. v. 192, 2020.

OVERMANN, J.; SMITH, D. **Microbial resource centers contribute to bioprospecting of bacteria and filamentous microfungi.** Springer International Publishing. p. 51-79, 2017.

PEERSON, A.; MOLIN, G. **Capacity of bioemulsifier production of environmental *Pseudomonas* and *Vibrionaceae* growing on carbohydrates.** Applied Microbiology Biotechnology. v. 36, n. 5, p. 439-442, 1987.

PENG, X.; YUAN, X. Z.; ZENG, G. M.; HUANG, H. J. **Extraction and purification of laccase by employing a novel rhamnolipid reversed micellar system.** Process Biochemistry. v. 47, n. 5, p. 742-748, 2012.

SAFARY, A.; ARDAKANI, M. R.; SURAKI, A. A.; KHIAVI, M.; MOTAMEDI, H. **Isolation and characterization of biosurfactant producing bacteria from Caspian Sea.** Biotechnology. v. 9, n. 3, p. 378-382, 2010.

SANTOS, H. F.; CARMO, F. L.; PAES, J. E. S.; ROSADO, A. S.; PEIXOTO, R. S. **Bioremediation of mangroves impacted by petroleum.** Water Air Soil Pollution. v. 216, p. 329–350, 2011.

SARAVANAN, D.; RADHAKRISHAN, M.; BALAGURUNATHAN, R. **Bioprospecting of bacteria from less explored ecosystem.** Journal of chemical and pharmaceutical Research. v. 7, n. 3, p. 852-857, 2015.

SATPUTE, S. K.; WAGHMODE, S.; SURYAVANSHI, M.; SHARMA, D. ***Planococcus* species- an imminent resource to explore biosurfactant and bioactive metabolites for industrial application.** Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. v. 8, 2020.

SELVAKUMAR, S.; SEKAR, P.; RAJAKUMAR, S.; AYYASAMY, P. M. **Rapid screening of crude oil degrading bacteria isolated from oil contaminated areas.** The Scitech Journal. n. 1, p. 24-27, 2014.

SHARMA, D.; SINGH, S. B.; CHAUHAN, N.; PROCHA, S.; LAL, S. **Isolation and functional characterization of novel biosurfactant produced by *Enterococcus faecium***. Springerplus. v. 4, n. 1, p. 1-14, 2015.

SHARMA, S.; DATTA, P.; KUMAR, B.; TIWARI, P.; PANDEY, L. M. **Production of novel rhamnolipids via biodegradation of waste cooking oil using *Pseudomonas aeruginosa* MTCC7815**. Biodegradation. 2019.

SIEGMUND, I.; WAGNER, D. F. **New method for detecting rhamnolipids exerted by *Pseudomonas* species grown on mineral agar**. Biotechnology Letters. v. 95, p. 95-100, 1991.

SINGH, S. P.; SINGH, D. **Biodiesel production through the use of different sources and characterization of oils and their esters as the substitute of diesel: A review**. Renewable and Sustainable Energy Reviews. v. 14, n. 1, p. 200-216, 2010.

TIRALERDPANICH, P.; SONTHIPHAND, P.; LUEPROMCHAI, E.; PINYAKONG, O.; POKETHITIYOOK, P. **Potential microbial consortium involved in the biodegradation of diesel, hexadecane and phenanthrene in mangrove sediment explored by metagenomics analysis**. Marine Pollution Bulletin. v. 113, p. 595- 605, 2018.

TRUSKEWYCZ, A.; GUNDRY, T. D.; KHUDUR, L. S.; KOLOBARIC, A.; TAHA, M.; ABURTO-MEDINA, A.; BALL, A. S.; SHAHSAVARI, E. **Petroleum hydrocarbon contamination in terrestrial ecosystems- fate and microbial responses**. Molecules. v. 24, n. 18, p. 3400, 2019.

VARJANI, S. J. **Microbial degradation of petroleum hydrocarbons**. Bioresource Technology. v. 223, p. 277-286, 2017.

WALTER, V.; SYLDATK, C.; HAUSMANN, R. **Screening concepts for the isolation of biosurfactant producing microorganisms**. Biosurfactant. p. 113, 2010.

INFORMAÇÕES SUPLEMENTARES

Isolados	DCPIP	TTC	Blue Ágar	Colapso da Gota		Emulsão	Espalhamento da Gota	Escorrimento da Gota
				Mineral	Diesel			
P143	+	-	-	+	+	-	-	-
A108	+	-	-	+	-	-	-	-
P247	+	-	-	+	+	-	-	-
P323	+	-	-	-	+	-	-	-
P329	+	-	-	-	+	-	-	-
P88	+	-	-	-	-	-	-	-
P237	+	-	-	+	+	-	-	-
P293	+	-	-	+	+	-	-	-
P257	+	-	-	-	+	-	-	-
P309	+	-	-	-	+	-	-	-
P2 188	+	-	-	-	+	-	-	-

P194	+	-	+	-	+	+	-	+
P180	+	-	+	-	+	-	-	-
P91	+	-	+	-	+	-	-	-
P300	+	-	-	-	-	+	-	-
A38	+	-	-	-	+	-	-	-
P205	+	-	+	-	+	-	-	-
P147	+	-	-	-	-	-	-	-
P100	+	-	+	-	+	+	-	+
A76	+	-	-	-	+	-	-	-
P3 146	+	-	-	-	-	+	-	+
P278	+	-	+	-	-	+	-	+
P295	+	-	-	-	+	-	-	-
P90	+	-	-	-	+	-	-	-
P256	+	-	+	-	+	+	-	+
P3 102	+	-	+	-	+	-	-	-
A65	+	-	-	-	+	-	-	-
P96	+	-	-	-	+	-	-	-
P247	+	-	-	-	+	-	-	-
P3 108	+	-	-	-	+	-	-	-
P3 355	+	-	-	-	+	-	-	-
P302	+	-	-	-	+	-	-	-
A62	+	-	-	-	+	-	-	-

Tabela 1: Resultados dos 33 isolados que apresentaram resultados positivos no teste do DCPIP e seguiram para avaliação da capacidade de produção de biossurfactante.

IDENTIFICAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS PRESENTES NO CÓRREGO ALVARENGA DO COMPARTIMENTO DO BRAÇO DO ALVARENGA DO RESERVATÓRIO BILLINGS, NO MUNICÍPIO DE SÃO BERNARDO DO CAMPO – SÃO PAULO

Data de aceite: 01/09/2021

Data de submissão: 23/06/2021

Vitoriana Barbosa Veiga Reis

Universidade Paulista – UNIP
São Paulo/Brasil

<http://lattes.cnpq.br/4012781934342529>

Marta Ângela Marcondes

Universidade de São Caetano do Sul
São Paulo/Brasil

<http://lattes.cnpq.br/4139017884353855>

Mônica Teixeira Andrade Leal

Universidade Paulista – UNIP
São Paulo/Brasil

<http://lattes.cnpq.br/2773757778364751>

André Contri Dionizio

Universidade de São Caetano do Sul
São Paulo/Brasil

<http://lattes.cnpq.br/7354535984086636>

RESUMO: Este estudo tem por objetivo realizar a identificação de enterobactérias patogênicas nas águas do Córrego Alvarenga pertencente ao braço do Alvarenga do Reservatório Billings. Como resultados, foram identificados três tipos de enterobactérias: *Shigella* sp., *Salmonella* sp. e *Escherichia coli*. Essas enterobactérias, ao entrarem em contato com o organismo humano, podem causar gastroenterites e dermatites. A hipótese foi corroborada através de testes microbiológicos feitos em fevereiro de 2020 com amostras de água da Represa Billings que

foram coletadas em três locais nomeados como BS (Billings Silvaplana), BJD (Billings Jardim Laura) e BPI (Billings Parque Ideal). Os meios de cultura utilizados foram Caldo Lauril Sulfato (LST), Plate Count Agar (PCA), Caldo Lactosado Verde Brilhante e Bile (VBB) e Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB). Também foram analisados os parâmetros físico-químicos, pH e turbidez, que mostraram números acima do permitido. Os resultados foram comparados ao que estabelece a RESOLUÇÃO CONAMA 357/2005. Com todos os resultados obtidos, pode-se compreender, que especificamente nesses três pontos de coleta, não há adequação com os limites de Classe II.

PALAVRAS-CHAVE: Billings; Enterobactérias; Reservatório.

ABSTRACT: This study aims to identify pathogenic enterobacteria in the waters of Córrego Alvarenga belonging to the Alvarenga branch of the Billings Reservoir. As a result, three types of enterobacteria were identified: *Shigella* sp., *Salmonella* sp. and *Escherichia coli*. The hypothesis was supported by microbiological tests carried out in February 2020 with water samples from the Billings Dam that were collected at three sites named as BS (Billings Silvaplana), BJD (Billings Jardim Laura) and BPI (Billings Parque Ideal). The culture media used were Lauryl Sulfate Broth (LST), Plate Count Agar (PCA), Brilliant Green Lactose Broth and Bile (VBB) and Eosin Methylene Blue Agar (EMB). The physical-chemical parameters, pH and turbidity were also analyzed, which showed numbers above the permitted levels. The results were compared to the standards of Class II of

CONAMA RESOLUTION 357/2005 and were not suitable.

KEYWORDS: Billings; Enterobacteria; Reservoir.

1 | INTRODUÇÃO

A Represa Billings possui 127km² de espelho d'água com compartimentos que ao todo reservam nove milhões de litros de água. O conjunto de rios e nascentes que direcionam água para o reservatório estende-se por mais de 580km² e abrange os municípios de São Bernardo do Campo, Diadema, Ribeirão Pires, Santo André, Rio Grande da Serra e São Paulo. A represa faz limite a oeste com a bacia hidrográfica da Guarapiranga e ao sul com a Serra do mar. Seus principais rios e córregos formadores são: Rio Grande, Ribeirão Pires, Rio Pequeno, Rio Pedra Branca, Rio Taquacetuba, Ribeirão Bororé, Ribeirão Cocaia, Ribeirão Guacuri, Córrego Grota Funda e Córrego Alvarenga (EMA E, 2021).

O reservatório, que foi projetado para armazenar água para a Usina Henry Borden, passou a ser usado também para o abastecimento dos municípios citados. Na Figura 1, observa-se o Mapa de Compartimentos da Represa Billings.

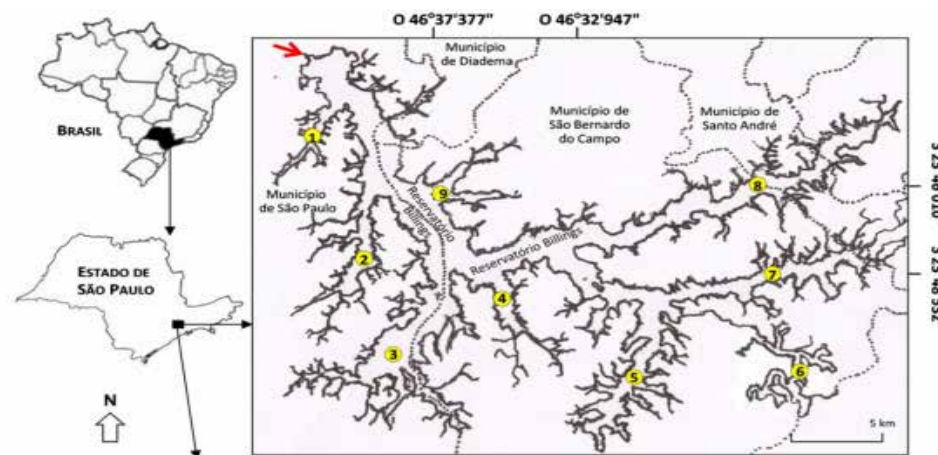


Figura 1. Mapa de Compartimentos da Represa Billings.

Fonte: Pompêo & Moschini-Carlos (Org.) Reservatórios que abastecem São Paulo: problemas e perspectivas.

Desde sua criação, em alguns pontos, como é o caso dos pontos coletados neste estudo, o reservatório tem recebido esgotos devido à falta de tratamento, criação de políticas públicas habitacionais e da articulação da sociedade civil, que em muitos casos, foi impedida a ir morar nas regiões do entorno.

Verifica-se constância do despejo de esgotos não tratados diretamente nas águas do reservatório Billings, principalmente nas áreas adensadas que correspondem ao Corpo

Central e ao compartimento do Alvarenga.

O presente estudo tem como objetivo verificar a existência de grupos de enterobactérias nas águas de três pontos do Braço do Alvarenga do Reservatório Billings no Município de São Bernardo do Campo: Billings Silvaplana, Billings Jardim Laura e Billings Parque Ideal, e analisar a qualidade da água baseado nos parâmetros de Classe II - Resolução CONAMA 357/2005.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Cada ponto teve como critério de escolha a proximidade com os bairros, o despejo de esgoto em direção ao reservatório e a pesca constante. Em toda extensão há um grande acúmulo de dejetos, móveis, pequenas navegações e mais uma série de lixos descartados de forma inconsequente. Para as análises microbiológicas e coletas, utilizou-se a metodologia descrita no Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras. (ANA, 2011).

A Figura 2 apresenta os três pontos de coleta e a Tabela 1 suas coordenadas geográficas.

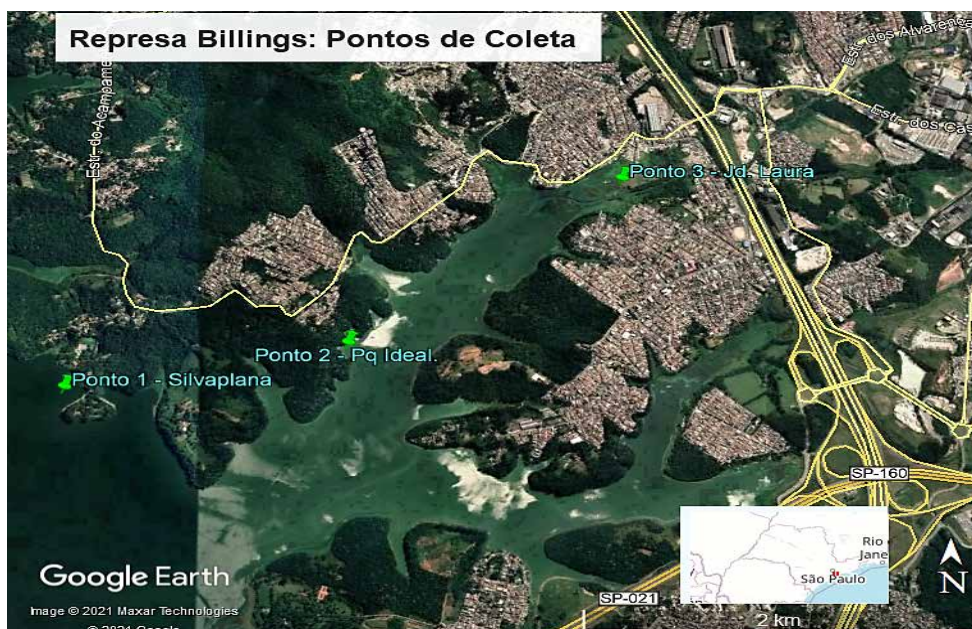


Figura 2. Mapa dos pontos de coleta na Represa Billings.

Fonte: Google Earth (2021) – elaborado pelos autores.

2.1 Pontos de Coleta

Pontos	Coordenadas Geográficas (WGS-84)
BS – Billings Silvaplane	23°45'30" S / 46°37'54" W
BJDL – Billings Jardim Laura	23°44'37" S / 46°36'32" W
BPI – Billings Parque Ideal	23°45'4" S / 46°37'19" W

Tabela 1. Coordenadas geográficas dos três pontos de coleta.

2.1.1 Características Locais e Organolépticas

Billings Silvaplane – BS: Localizado na Estrada dos Alvarengas com diversas chácaras construídas em volta. Nessa extensão é encontrada uma parte mais limpa com uma grande diversidade de peixes, o que atrai muitos pescadores, e aves. Não apresenta lixo e nem mau cheiro, segundo a percepção durante as coletas.

Billings Jardim Laura – BJDL: Córrego cujo suas águas são canalizadas oriundas dos esgotos das moradias do Bairro Jardim Laura e despejadas diretamente na Represa. Por conterem muito sedimento, e pela ausência de correnteza, a água é escura, além de apresentar mau cheiro.

Billings Parque Ideal – BPI: Há presença de aves como garças e urubus, uma área de lazer com campo de futebol society, quadra de basquete e pista de skate. Não tem boa preservação, apresenta lixos, embarcações abandonadas, frequentemente são homiziados corpos, além do odor ruim.



Figura 3. A - Vista da Represa de dentro da chácara Silvaplane. B - Esgoto a céu aberto do Jardim Laura. C - Extensão da Represa no bairro Parque Ideal.

Fonte: fotos da autora (18/02/2020).

2.2 Coletas

Para a análise das águas da represa Billings, foram coletadas amostras no dia 18 de fevereiro de 2020 em três locais situados na cidade de São Bernardo do Campo, braço Córrego Alvarenga. Em cada ponto foram coletados 45 mL de água e armazenados em três tubos *Falcon* esterilizados. As amostras foram transportadas em caixa térmica e mantidas em gelo. Na Tabela 2, verifica-se os horários e condições ambientais das coletas.

Ponto	Horário	Temp. Atmosférica	Temp Água
BS	06h58	21°C.	25°C
BJDL	08h10	24°C	
BPI	08h53	26°C	

Tabela 2 – Horários de coletas e condições ambientais.

2.3 Análises Microbiológicas

Após as amostras serem coletadas, foram levadas e analisadas no Laboratório de Análise Ambiental do Projeto IPH – Índice de Poluentes Hídricos da Universidade de São Caetano do Sul – USCS. No local foram realizadas as análises microbiológicas e de parâmetros físico-químicos, pH e turbidez. (BRASIL, 2013).

A metodologia aplicada neste trabalho é descrita como Metodologia dos Tubos Múltiplos, para coliformes totais ou termotolerantes, em que a quantificação das Unidades Formadoras de Colônias – UFC (medida para verificação da proliferação de bactérias) é realizada e comparada para obtenção de um Número Mais Provável – NMP, utilizando tabelas de probabilidade. (CETESB, 2018)

Segundo Guerra (2016) em uma placa de Petri, é possível contar até aproximadamente 300 UFC. O cálculo é obtido pela seguinte equação:

$$\text{Resultado} = \text{Média} \times \frac{1}{\text{Nível diluição}} \times \frac{1}{\text{Volume alíquota}}$$

Média = Média aritmética dos resultados da contagem de UFC das amostras em triplicata

Nível diluição = 10^{-1}

Volume alíquota = 10^{-3}

Os meios de cultivo estão identificados segundo os dados contidos na Tabela 3.

Item	Fabricante/Modelo	Lote
Lauryl Tryotise Broth (LST)	Kasvi K25-610085	082417504
Brilliant Green Broth (VBB)	Kasvi - K25-610010	102717501
EMB - Levine Agar	Kasvi - K25-61001	071216504
PCA - Plate Count Agar	Kasvi - K25-610040	082317507

Tabela 3 – Descrição dos meios de cultivo bacteriológico.

O processo de identificação e contagem bacteriológica desenvolvido encontra-se disposto conforme fluxograma da Figura 4.

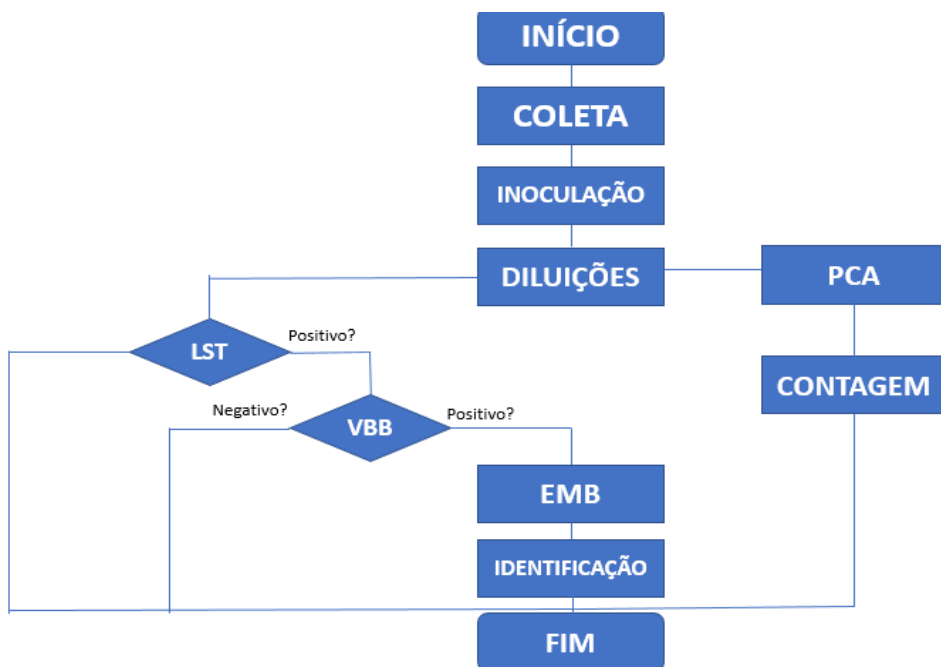


Figura 4. Fluxograma de todo o processo de análise microbiológico. Fonte: criado pela autora (14/04/2021).

2.4 Análise Físico-química

Na análise, foram utilizados os equipamentos, referências e parâmetros descritos na Tabela 4.

Parâmetro	Equipamento Marca: Lovibond	Padrão limite (Class II)	Unidade
Turbidez	Colorímetro Multiparâmetro MD 600	100	NTU
Oxigênio Dissolvido	Multiparâmetros SensoDirect 150	>5	mg/L
pH		6 a 9	-x-
Temperatura Água/Ar		-x-	°C

Tabela 4 - Equipamentos, parâmetros e referências para análise.

3 I RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Análise Microbiológica

Após análise, foram identificados os seguintes quantitativos bacteriológicos, conforme os resultados nas Tabela 5 e 6:

AMOSTRA	NMP/ UFCs	Limite Classe II (UFC)
BS	2100	1000
BJDL	240000	
BPI	46000	

Tabela 5. Resultados obtidos do cálculo do NMP para as UFCs de cada ponto.

AMOSTRA	TOTAL	Limite Classe II (UFC)
BS	1800	1000
BJDL	INCONTÁVEIS	
BPI	31000	

Tabela 6. Resultados da contagem das UFCs das aplicações em Placas de Petri com PCA.

Os resultados obtidos demonstram que nos três pontos estudados esse parâmetro, ou seja, as Unidades Formadoras de Colônias – UFCs, se encontram acima do que preconiza a legislação, sendo que o limite é de apenas 1000 UFCs. Desse modo, os valores apresentados no ponto BS estão 2,1 vezes acima do permitido, no ponto BJDL os valores estão 240 vezes e no ponto BPI estão, em média, 40 vezes acima do que preconiza a legislação.

A confirmação do despejo de esgoto doméstico não tratado diretamente nas águas dos pontos estudados se deu a partir da identificação dos grupos de enterobactérias que

se proliferaram durante esta pesquisa: *Escherichia coli* (Figura 5A), *Shigella* (Figura 5B) e *Salmonella* (Figura 5C).

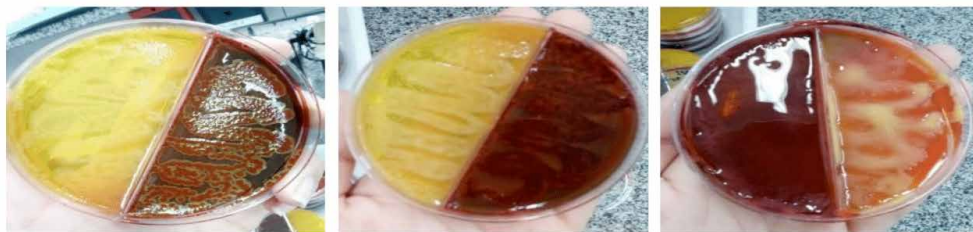


Figura 5. Crescimento bacteriano em EMB. A – Placa com proliferação de *E.coli*. Remetem reflexos verde neon e alguns pontilhados. B - Placa com proliferação de *Salmonella*. Aparência pontilhada e incolor. C - Placa com proliferação de *Shigella*. Apresenta textura leitosa e incolor.

Fonte: foto da autora (02/03/2020).

As amostras descritas como positivas obtidas dos tubos em VBB no momento das análises, das que foram inoculadas em placas em EMB, obteve-se os seguintes resultados nos três pontos de coleta (Tabela 7, 8 e 9). A quantidade de X está de acordo com a quantidade encontrada.

AMOSTRA	SALMONELLA	E.COLI	SHIGELLA
10 ⁻¹	Não identificado		
10 ⁻²		X	XX
10 ⁻³	X		XX

Tabela 7. Resultados do primeiro ponto de coleta nas placas de EMB – BPI.

AMOSTRA	SALMONELLA	E.COLI	SHIGELLA
10 ⁻¹	X	XXX	XXX
10 ⁻²	XX	X	XXX
10 ⁻³	Não identificado		

Tabela 8. Resultados do segundo ponto de coleta nas placas de EMB – BJDJ.

AMOSTRA	SALMONELLA	E.COLI	SHIGELLA
10 ⁻¹	X		XX
10 ⁻²	X	XX	XX
10 ⁻³	Não identificado		X

Tabela 9. Resultados do terceiro ponto de coleta nas placas de EMB – BS.

3.2 Resultados físico-químicos

Os dois parâmetros analisados, pH e turbidez, são indicadores de qualidade da

água sob aspectos físicos e químicos que reconhecem números permitidos para consumo humano. Foram medidos em aparelhos específicos descritos na metodologia e os resultados obtidos estão na Tabela 10.

AMOSTRA	pH	TURBIDEZ (NTU)
BS	6.82	40.6
BJDL	6.47	14.9
BPI	6.61	13.9

Tabela 10. pH e turbidez medidos por aparelhos específicos.

Os resultados não ultrapassaram a média, alternando apenas um pouco os números, sendo o número mais alto no ponto BS, com 6.82, 6.61 no ponto BPI e 6.47 no ponto BJDL. Pode-se compreender que todos os resultados estão em números aceitáveis e apresentam neutralidade, diferente dos resultados obtidos sobre a turbidez. O valor máximo permitido é de 1,0 (NTU) para água subterrânea desinfetada e água filtrada, 5,0 (NTU) como padrão para consumo humano e 2,0 (NTU) para filtração lenta. (BRASIL, 2005)

Nos três pontos de coleta, todos os resultados foram extremamente altos para o permitido. O primeiro ponto, BS, obteve 40.6 NTU, o ponto BJDL, 14.9 NTU e por último, BPI com 13.9 NTU. Assim verificamos que em nenhum dos pontos coletados a turbidez estava de acordo com os valores permitidos citados.

Compreende-se com esses resultados que a água está imprópria para alguns tipos de uso, entre eles banho livre e ingestão. Com exceção do ponto BJDL, que é esgoto a céu aberto, parte da população usufrui dos outros dois pontos para lazer. Em comparação, o ponto BS apresenta menor contaminação. É, de fato, uma área conservada pelos moradores e com proliferação de diversas espécies de peixes. O ponto BPI é também utilizado para pesca, banhos e passeios de barcos e lanchas, práticas que deveriam ser reconsideradas pelos moradores, já que além dos parâmetros de qualidade ultrapassarem os limites permitidos para consumo, a degradação da área é bem visível.

4 | CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nas análises microbiológicas realizadas na perspectiva de comprovar a existência de enterobactérias patógenas em quantidades maiores do que as aceitáveis nos três pontos de coleta - Silvapiana, Bairro Jardim Laura e Parque Ideal - do compartimento Córrego Alvarenga, corroboram com a hipótese inicial, confirmando que os índices encontrados são preocupantes para a população moradora do entorno desses três pontos, além de compreender que o uso livre dessas águas para banhos, lazer e ingestão, não são recomendáveis, conforme estabelecidos parâmetros para a Classe II - Resolução Conama 357/2005.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS [ANA] (2011) **Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos** 326 p Brasília-Brasil.

EMPRESA METROPOLITANA DE ÁGUAS E ENERGIA S.A. **Histórico**. São Paulo: EMAE, (s.d.). Disponível em: <http://www.emae.com.br/conteudo.asp?id=Historico>. Acesso em: 04 Abr.2021.

BRASIL. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE [CONAMA] (2005) **Resolução no. 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos d'água e as diretrizes ambientais para sua classificação, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes e dá outras providências. Publicação DOU nº. 053 18/03/2005 p. 56-68. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=43>.

NORMA TÉCNICA L5.202 (2018) **Coliformes totais, coliformes termotolerantes e Escherichia coli - Determinação pela técnica de tubos múltiplos**, 5ª Ed, 29 p. Companhia de Tecnologia Ambiental [CETESB], São Paulo.

BRASIL. FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE [FUNASA] (2013). **Manual prático de análise de água**. Brasília - 4. ed. 150 p.

GUERRA, A. F. (2016) **Métodos de contagem microbiana**. Ed. Valença, 1ª Edição, 28p. Disponível em <www.microbiologia-de-alimentos.com> Acesso em: 20 Jun 19.

CAPÍTULO 12

PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA BIODIGESTÃO ANAERÓBICA

Data de aceite: 01/09/2021

Data de submissão: 06/08/2021

Daniela Cristina Souza Oliveira

Universidade Federal dos Vales do
Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM
Diamantina – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/9158225865037360>

Ludimila Rodrigues Dayrell

Universidade Federal dos Vales do
Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM
Diamantina – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/1248902193106598>

Marcus Henrique Canuto

Universidade Federal dos Vales do
Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM
Diamantina – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/7621355940293798>

David Lee Nelson

Universidade Federal dos Vales do
Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM
Diamantina – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/4169839363186966>

Arlete Barbosa dos Reis

Universidade Federal dos Vales do
Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM
Diamantina – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/0225518466080582>

Vivian Machado Benassi

Universidade Federal dos Vales do
Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM
Diamantina – Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/8244877867115110>

RESUMO: Os biocombustíveis vêm se tornando uma excelente fonte de energia alternativa. A produção de biogás é uma tecnologia bem estabelecida principalmente para a geração de energia renovável e também para a valorização e tratamento de resíduos orgânicos. O biogás é obtido de um processo biológico, chamado digestão anaeróbica, na qual diferentes microrganismos decompõem a matéria orgânica. O biogás obtido pela digestão anaeróbica dos recursos renováveis pode ser utilizado para a produção de calor, eletricidade ou combustível de transporte. Este estudo apresenta uma revisão bibliográfica do processo de digestão anaeróbica.

PALAVRAS-CHAVE: Biodigestão anaeróbica; Metano; Bioenergia.

ABSTRACT: Biofuels are becoming an excellent source of alternative energy. Biogas production is a well-established technology primarily for the generation of renewable energy and also for the recovery and treatment of organic waste. Biogas is obtained from a biological process, called anaerobic digestion, in which different microorganisms break down organic matter. Biogas obtained from the anaerobic digestion of renewable resources can be used to produce heat, electricity or transport fuel. This study presents a literature review of the anaerobic digestion process.

KEYWORDS: Biodigestion; Metano; Bioenergy.

1 | INTRODUÇÃO

Em função da crescente demanda de

combustíveis e do aumento da emissão de gases do efeito estufa, faz-se necessário cada vez mais o uso de combustíveis limpos e renováveis (ALVIM; ALVIM; SALES; SALES et al., 2014). O biogás tem sido reconhecido como uma fonte de energia renovável disponível para acelerar consideravelmente o desenvolvimento socioeconômico. Esse pode ser valorizado direta ou indiretamente para diversas aplicações, como a produção de produtos químicos de valor agregado ou como substituição do gás natural (KAPOOR; GHOSH; TYAGI; VIJAY et al., 2020).

Dessa forma, a produção do biogás vem aumentando a cada ano, e tem se mostrado como uma alternativa viável, principalmente para o setor agropecuário, por reduzir a quantidade de efluentes, a emissão de gases na atmosfera e a contaminação do solo. Uma das principais vantagens deste biocombustível é a proximidade entre a produção e a fonte de consumo, diminuindo as perdas na transmissão e distribuição de energia.

O biogás pode ser convertido em energia térmica ou elétrica e a sua aplicação pode ser adaptada à demanda local, além de ser convertido em biometano para utilização em automóveis, caminhões e máquinas agrícolas. Apesar de ter uma participação muito baixa na matriz energética brasileira, cerca de 1%, a capacidade instalada de biogás para geração elétrica cresceu mais de 100% entre 2013 e 2018 (FERNANDES; MARIANI, 2019).

Além dos benefícios decorrentes do tratamento adequado dos resíduos de biogás, o efluente digerido, incluindo a matéria orgânica tratada, pode ser aplicado como fertilizante, reduzindo o uso de fertilizantes artificiais e, conseqüentemente, diminuindo os custos (BRAMLEY; SHIH; FOBI; AXUM *et al.*, 2011).

A tecnologia de digestão anaeróbia é um processo com ampla aplicabilidade para a conversão de resíduos e efluentes orgânicos em biogás, associando o tratamento adequado a uma fonte perpétua de energia renovável. O processo de biodigestão se desenvolve sobre resíduos rurais (esterco), agroindustriais (vinhaça, efluentes das indústrias de laticínios e dos matadouros), domésticos ou comunitários (lama de esgotos) e, também, sobre plantas (aguapé) (MALAJOVICH, 2012; TUNES, 2017).

Apesar de ser considerada uma estratégia promissora, o processo de digestão anaeróbia deve ser cuidadosamente avaliado antes de ser implementado em larga escala, especialmente em relação às características dos substratos, como matéria orgânica e valor nutricional, macro nutrientes, elementos traços e produção específica de biogás. Esses parâmetros influenciam diretamente alguns outros parâmetros importantes do processo tais como o pH, a acumulação de inibidores potenciais, macro nutrientes, deficiências de elementos traços e também as taxas de degradação (JANKE; LEITE; BATISTA; SILVA *et al.*, 2016). Nesse contexto, tendo em vista o crescimento e importância do setor dos biocombustíveis, o presente estudo busca referenciar a produção de biogás a partir da tecnologia de biodigestão anaeróbia.

2 | REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Biogás

O biogás é composto principalmente por metano e gás carbônico, e pode ser utilizado na geração de energia elétrica, mecânica e no aquecimento (CALZA; DE LIMA; NOGUEIRA; SIQUEIRA *et al.*, 2016). A geração de energia elétrica pode ser feita pela queima do biogás em turbinas e em motores do ciclo de Otto e diesel, devidamente adaptados, sendo considerada uma fonte de energia limpa e própria para uso em propriedades rurais. O biofertilizante por outro lado trata-se de um adubo natural rico em nitrogênio (MARCUCCI, 2018).

De acordo com Granato *et al.* (2002), o biogás proveniente da biodigestão anaeróbia da vinhaça pode ser explorada das seguintes maneiras: (i) queimá-lo completamente na caldeira, gerando vapor para operar todo o mecanismo para esmagar a cana-de-açúcar. Neste caso, os estudos mostram que existe um excedente de 25-28% de todo o bagaço que é geralmente queimado em caldeiras e poderia ser utilizado para outros fins; (ii) um terço do biogás poderia ser purificado, produzindo metano para substituir todos os combustíveis utilizados na indústria agrícola durante a colheita, e os restantes dois terços seriam queimados em caldeiras que fornecem um excedente de 18% do bagaço; (iii) utilizar a totalidade do biogás para acionar uma turbina a gás, conjugada a um gerador elétrico.

O aumento do gás metano é considerado um dos componentes do aquecimento global. Portanto, é essencial reduzir a auto decomposição da biomassa e utilizar o biometano gerado por biomassa para fins úteis sem liberá-lo na atmosfera (DE BHOWMICK; SARMAH; SEN, 2018).

O poder calorífico do biogás é variável estando na faixa de 22.500 a 25.000 kJ/m³, admitindo o metano com cerca de 35.800 kJ/m³. Isto significa um aproveitamento de 6,25 a 10 kWh/m³. Sua potencialidade é demonstrada quando tratado, pois o seu poder calorífico pode chegar a 60% do poder calorífico do gás natural (JORDÃO; PESSÔA; VON SPERLING, 2006; SALOMON; LORA, 2009).

Há um alto potencial na produção de biogás globalmente. Moreda (2016) avaliou um potencial elétrico mínimo de 0,162 TWh/ano no Uruguai, considerando a digestão anaeróbia de resíduos agrícolas, esterco animal, vinhaça, lodo de tratamento de efluentes e resíduos sólidos urbanos.

Lamo (1991) demonstrou o potencial energético de uma tonelada de cana podendo gerar 909,90 x 10³ kcal de energia (álcool e biogás). Entretanto, caso não se aproveite o biogás resultante da biodigestão da vinhaça, deixa-se de recuperar 7,5% do total de energia disponível em uma tonelada de cana.

2.2 Biodigestão anaeróbica

A biodigestão anaeróbia pode ser definida como um processo biológico natural no qual um consórcio de diferentes tipos de microrganismos interagem promovendo a transformação de compostos orgânicos complexos em compostos simples, resultando principalmente, na produção de metano e dióxido de carbono. Como resultado desta fermentação ocorre a liberação de biogás e a produção de biofertilizante (MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015).

Para Fuess (2017), a (bio)digestão anaeróbia compreende um processo biológico natural que ocorre na ausência de oxigênio livre, no qual a matéria orgânica é convertida em uma mistura gasosa a partir da atividade sintrófica de diversas populações de microrganismos. Esta mistura gasosa, conhecida como biogás, é formada principalmente por metano e dióxido de carbono, além de menores frações de hidrogênio nitrogênio e sulfeto de hidrogênio, apresentando grande potencial energético devido à presença do CH_4 e de H_2 .

Esta tecnologia permite o tratamento de resíduos com alta carga orgânica de forma a reduzir seu volume produzindo um biofertilizante rico em nutrientes, e ainda obter um aproveitamento energético através da recuperação dos gases gerados no processo (NEVES, 2016).

Segundo Morais *et al* (2015), a digestão anaeróbica oferece vantagens ambientais e energéticas. Do ponto de vista ambiental, ela reduz a conteúdo de matéria orgânica presente nos resíduos tornando-os menos poluentes quando descartados no meio ambiente. Em relação ao aspecto energético, o processo anaeróbio possibilita a geração de um biogás que pode ser utilizado como fonte alternativa de energia.

O tratamento anaeróbico fornece um método de redução da poluição das operações agrícolas e industriais e, ao mesmo tempo, compensa o uso de combustíveis fósseis pelas operações. Como uma das mais eficientes tecnologias de tratamento de resíduos e efluentes, a digestão anaeróbica tem sido amplamente utilizada para o tratamento da lodo municipal e da aplicação limitada no tratamento de resíduos industriais orgânicos, incluindo resíduos de processamento de frutas e hortaliças, resíduos de embalagem e resíduos agrícolas (CHEN; CHENG; CREAMER, 2008; PARKIN, 1983).

2.3 Etapas do processo de digestão anaeróbica

A conversão anaeróbia da matéria orgânica pode ser dividida em quatro etapas principais, de acordo com as transformações bioquímicas às quais os compostos orgânicos são submetidos: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, de modo que pelo menos cinco grupos de microrganismos participam do processo (FUESS, 2017).

Nesse processo é um consórcio de microrganismos (bactérias acidogênicas, bactérias acetogênicas e arqueas metanogênicas) que são responsáveis por cada fase do

processo e que devem estar em perfeito equilíbrio dentro do sistema para a produção de biogás a partir de materiais orgânicos (KOTHARI, R.; PANDEY, A.; KUMAR, S.; TYAGI, V. *et al.*, 2014). Os microrganismos fermentativos são os primeiros a atuar nesse complexo processo de degradação de substratos e são aqueles que obtêm o maior benefício energético (MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015).

2.3.1 Hidrólise

A primeira etapa na digestão anaeróbia é a hidrólise dos polímeros de cadeia longa, realizada pelas bactérias fermentativas hidrolíticas. Devido à incapacidade de bactérias em assimilar a matéria orgânica particulada, ocorre a hidrólise de materiais particulados complexos (polímeros) em materiais dissolvidos mais simples (moléculas menores). Os principais compostos a serem hidrolisados são a celulose, as proteínas e os lipídios. A hidrólise destes polímeros complexos, alguns dos quais são insolúveis, é catalisada por enzimas sintetizadas pelas bactérias fermentativas, tais como proteases e lipases (CASTRO E SILVA, 2014).

Os pré-tratamentos biológicos, químicos, mecânicos ou uma combinação destes podem ser utilizados para acelerar a etapa da hidrólise, pois eles podem causar a lise ou desintegração das células de lodo e permitir a liberação de matéria intracelular permitindo maior acessibilidade dos microrganismos anaeróbios, reduzindo assim o tempo de retenção no digestor (FERRER; PONSÁ; VÁZQUEZ; FONT, 2008).

Múltiplos fatores influenciam na taxa de hidrólise do substrato, como temperatura operacional do reator, tempo de residência e composição do substrato, tamanho das partículas, pH do meio e, até mesmo, a concentração de ácidos orgânicos voláteis provenientes da hidrólise. As bactérias fermentativas hidrolíticas se constituem numa grande mistura de espécies, muitas são anaeróbias estritas, como as do gênero *Clostridium*, e algumas são facultativas, como as do gênero *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Escherichia* (CASTRO E SILVA, 2014).

2.3.2 Acidogênese

Nesta fase, a maioria das bactérias acidogênicas converte os produtos de hidrólise da matéria orgânica complexa em ácidos orgânicos voláteis (principalmente acético, propiônico e butírico), álcoois (principalmente etanol), corpos cetônicos (principalmente acetona), dióxido de carbono e hidrogênio. Tais reações biológicas são termodinamicamente favoráveis, e assim, os microrganismos acidogênicos apresentam o menor tempo de geração mínimo e as maiores taxas de crescimento. Portanto, a acidogênese limitará o processo apenas se o substrato a ser degradado não for prontamente hidrolisado (MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015).

Os principais gêneros de bactérias fermentativas acidogênicas são: *Clostridium*,

Bacteroides, *Ruminococcus*, *Butyribacterium*, *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Desulfobacter* e *Micrococcus* (CASTRO E SILVA, 2014).

2.3.3 Acetogênese

Na acetogênese, bactérias acetogênicas transformam ácidos orgânicos e álcoois em ácido acético, H₂ e CO₂ (FUESS, 2017). As bactérias acetogênicas responsáveis por essa fase são: *Syntrophobacter wolinii* e *Sytrphomonos wolfei*. Outras bactérias são: *Clostridium* spp., *Peptococcus anerobus*, *Lactobacillus* e *Actinomyces* (MOLINO; NANNA; DING; BIKSON *et al.*, 2013; TUNES, 2017).

2.3.4 Metanogênese

Nesta etapa, o acetato, o hidrogênio e o dióxido de carbono são convertidos em gás metano e dióxido de carbono através da ação de microrganismos metanogênicos, que também são classificados como arqueas metanogênicas, responsáveis pela fase limitante do processo (TUNES, 2017).

As arqueas metanogênicas são anaeróbias estritas que incluem: *Methanobacterium*, *Methanobacillus*, *Methanococcus* e *Methanosarcina* (MOLINO; NANNA; DING; BIKSON *et al.*, 2013). Os principais gêneros do grupo das metanogênicas acetoclásticas são: *Methanosarcinas* e as *Methanosaetas*. Os gêneros mais comuns de metanogênicas hidrogenotróficas em reatores anaeróbios são: *Methanobacterium*, *Methanospirillum*, *Methanobrevibacter*, *Methanoculleus* e *Methanocorpusculum* (CASTRO E SILVA, 2014).

2.4 Fatores que interferem na biodigestão anaeróbica

O processo de digestão anaeróbica pode ser afetado por condições operacionais e ambientais, o que conseqüentemente influenciará na formação do metano. Logo, é necessário assegurar uma melhor condição ambiental aos microrganismos estabelecendo os melhores parâmetros operacionais para assegurar que o processo autorregulador ocorra de maneira estável (RAJESHWARI; BALAKRISHNAN; KANSAL; LATA *et al.*, 2000).

Os fatores ambientais que influenciam a digestão anaeróbica envolvem, principalmente, temperatura, pH, alcalinidade, macro nutrientes adequados (N, P, SO₄⁻²) e micronutrientes (traços de metais), tempo metabólico adequado e uma fonte de carbono (para síntese e energia) (MORAES; ZAIAT; BONOMI, 2015).

2.4.1 Temperatura

A temperatura causa efeitos significativos nas comunidades microbianas, interferindo na estabilidade do processo e na produção do biogás (KWIETNIEWSKA; TYS, 2014). De acordo Pinto (1999), as várias experiências já realizadas indicam uma correlação entre a produtividade do processo de digestão anaeróbica e a faixa de temperatura de operação.

Os microrganismos devem ser adaptados à faixa de temperatura de trabalho, o que permite classificá-los também com relação a este parâmetro.

Em relação à temperatura, a biodigestão anaeróbia é geralmente classificada em processos psicrófilos (10 a 20 °C), mesofílicos (20 a 40 °C) e termófilos (45 a 65 °C) (KWIETNIEWSKA; TYS, 2014). Abaixo de 10 °C o processo é, em geral, interrompido, sendo que a produção de gás aumenta com a elevação da temperatura (PINTO, 1999). Devido aos gastos com energia e estabilidade do processo a digestão anaeróbia mesofílica é mais utilizada. No entanto, a digestão anaeróbia termofílica é mais eficiente em termos da remoção da matéria orgânica e produção de metano (FERRER; PONSÁ; VÁZQUEZ; FONT, 2008).

2.4.2 pH

O pH mede a concentração de ácidos em sistemas aquosos, ou seja, a concentração de íons de hidrogênio livre em solução (KOTHARI, R.; PANDEY, A. K.; KUMAR, S.; TYAGI, V. V. *et al.*, 2014). Cada microrganismo cresce a uma faixa de pH característica e o máximo crescimento microbiano ocorre em um valor de pH ótimo. A faixa de pH ideal para a digestão anaeróbia é bem estreita, sendo está de 6,8 a 7,2 (WARD; HOBBS; HOLLIMAN; JONES, 2008).

Quando se trata de valores de pH, as bactérias acetogênicas e arqueas metanogênicas são as mais exigentes e com maiores dificuldades de se adaptar às mudanças de alterações ambientais. Isso porque, as bactérias acetogênicas produzem ácidos orgânicos voláteis que são convertidos em ácido acético, hidrogênio e dióxido de carbono, o que resulta em uma acidificação do meio que influencia negativamente a atividade dos microrganismos metanogênicos (MONTAÑÉS; PÉREZ; SOLERA, 2014).

A taxa de crescimento de arqueas metanogênicas é reduzida em ambientes com pH inferiores a 6,6, ao passo que um pH muito alcalino pode levar a desintegração dos grânulos microbianos e subsequente fracasso do processo, portanto o pH ideal para a fase metanogênica está em torno de 7,0 (WARD; HOBBS; HOLLIMAN; JONES, 2008).

2.4.3 Tempo de retenção hidráulica

O tempo de retenção hidráulica (TRH) pode ser definido como o tempo necessário para a completa degradação da matéria orgânica ou o tempo que a matéria orgânica permanece no digestor, sendo diretamente proporcional a sua taxa de degradação e ocorre quando a produção de gás é máxima, definindo a melhor qualidade digestora. Varia conforme a temperatura e a composição do resíduo. Vale citar que, o TRH depende do substrato, tipo de digestor, além de outros fatores. Kothari *et al.* (2014) relatam um TRH de 10 a 40 dias para biodigestão em condições mesofílicas e que resíduos compostos por celulose e hemicelulose exigem maior TRH, podendo variar de até 50 dias em alguns

tipos de digestores rurais, e em apenas algumas horas em certos digestores industriais (SALOMON, 2007).

2.4.4 Inóculo

Como a biodigestão compreende num processo complexo que exige a presença de diferentes espécies microbianas, faz-se necessário utilizar um inóculo apropriado, que contenha os microrganismos necessários para que o processo de degradação possa ser estabelecido. O inóculo não só proporciona um consórcio microbiano variado, como também macro e micro nutrientes e capacidade de neutralização (YANG; XU; GE; LI, 2015).

A concentração de inóculo é importante para o processo e varia de acordo com o material utilizado para ativar a população microbiana. De fato, o tipo de inóculo afeta a população microbiana no processo, bem como a diferença na composição físico-química e na capacidade de produção de biogás (DE VRIEZE; RAPORT; WILLEMS; VERBRUGGE *et al.*, 2015; SILVA; ABUD, 2016).

O inóculo deve possuir uma ampla composição trófica de modo a garantir a biodegradação de qualquer tipo de substrato. Frequentemente, as lamas digeridas constituem o tipo de inóculo mais usados em processos de biodigestão. No entanto, a utilização do material digerido (produto final resultante do processo) é preferível relativamente a outras fontes de inóculo, como lamas ativadas (suspensas ou granulares), esterco de gado e fluidos de ruminantes, pois possuem populações microbianas metanogênicas já perfeitamente desenvolvidas e adaptadas ao ambiente anaeróbio, reduzindo assim o risco de inibição. Inóculos provenientes de reatores com composições de alimentação específicas deverão ser misturados com diferentes tipos de inóculo, inclusive inóculos mesofílicos e termofílicos (ANGELIDAKI; ALVES; BOLZONELLA; BORZACCONI *et al.*, 2009; YANG; XU; GE; LI, 2015).

Os esterco bovinos, de aves e suínos podem ser utilizados como inóculo, pois contém uma grande massa microbiana de microrganismos acidogênicos e metanogênicos fundamentais na digestão anaeróbia. Estes podem acelerar a partida do processo, principalmente quando os resíduos são materiais difíceis de serem digeridos em decorrência dos elevados teores de celulose e lignina. Pandey *et al* (2011) ressaltam que o esterco bovino é um inóculo em potencial, uma vez que as *Arqueas* metanogênicas representam cerca de 40% de sua microfauna.

Barcelos (2009) investigou o potencial de aplicação do esterco bovino, suíno e rúmen bovino como inóculo da digestão anaeróbia de resíduos sólidos urbanos (RSU). Comparou-se o desempenho desses diferentes inóculos e também com biorreator testemunha, na qual o meio de reação consistia apenas de FORSUP (fração orgânica de resíduos sólidos urbanos preparada), água e tampão. E observou que a maior produção total de biogás aconteceu no biodigestor inoculado com rúmen bovino (144 L), seguido da testemunha

(137 L), esterco suíno (122 L) e, por último, esterco bovino (117 L). Concluiu que, apesar da partida da digestão anaeróbia não ter sido acelerada, os inóculos podem ser utilizados, pois auxiliaram na manutenção do pH e umidade e favoreceram a elevada produção de biogás.

Bueno (2010) comparou dois biodigestores em batelada para a produção de biogás utilizando esterco bovino em duas concentrações 1:2 e 1:1 (esterco: água). E, para a aclimatação, os substratos foram colocados em biodigestores vedados e, para a remoção de traços de O₂, permaneceram em repouso por 24 horas, à temperatura de 20 °C. O autor concluiu que o volume produzido de biogás foi maior para a diluição 1:2, evidenciando que a diluição tem papel fundamental na produção de biogás.

Syaichurrozi (2018). utilizou fluido ruminal como inóculo na co-digestão do *Salvinia molesta* e palha de arroz. Neste estudo, o líquido do rúmen em condições frescas foi obtido do matadouro de vacas na Serang City, província de Banten, na Indonésia. O líquido ruminal continha *Clostridium sp.*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium butyricum* e Arqueas metanogênicas ricas.

Barros e colaboradores (2016) utilizaram resíduos de suinocultura para arranque de reator UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), em experimento com processo de digestão anaeróbia com posterior alimentação dos reatores utilizando-se vinhaça natural, proveniente de plantio de cana em Ribeirão Preto, São Paulo. O volume de lodo de resíduos da suinocultura atingiu 30% do volume de cada reator, com o restante sendo preenchido pela vinhaça natural. A média da eficiência de remoção de DQO foi de aproximadamente 70 a 80%, tendo atingido até 82% de eficiência máxima pelos reatores UASB. Este estudo, que também analisou a conversão anaeróbia da vinhaça em biometano com aumento gradual da carga orgânica em dois reatores UASB, com volumes de 40,5 e 21,5 litros e com operação em temperatura mesófila, verificou produções máximas de metano na ordem de 0,19 L (g DQO total removido), alcançadas após 140 dias de operação dos reatores. (BARROS; DUDA; OLIVEIRA, 2016)

2.4.5 Inibidores da biodigestão anaeróbica

Substâncias inibitórias são frequentemente encontradas como a principal causa de perturbação e falha do reator anaeróbico, uma vez que estão presentes em concentrações substanciais em águas residuais e lodo. Uma grande variedade de substâncias tem sido relatada como inibidora aos processos de digestão anaeróbica. Um material pode ser julgado inibidor quando causa uma mudança adversa na população microbiana ou inibição do crescimento bacteriano. A inibição é geralmente indicada por uma diminuição da taxa de estado estável de produção e acúmulo de ácidos orgânicos (Kroeker et al., 1979).

Os inibidores frequentemente presentes em digestores anaeróbicos incluem amônia, sulfeto, íons de metal leve, metais pesados e orgânicos. O acúmulo dessas substâncias

pode causar instabilidade e perturbações no sistema, como indicado pela redução da produção de biogás e/ou teor de metano de biogás, e possível falha do reator. (CHEN; CHENG; CREAMER, 2008).

Várias estratégias com o intuito de minimizar a interferência desses inibidores, vem sendo empregadas. Como por exemplo, a codigestão com outros resíduos, controle de pH, a adaptação dos microrganismos às substâncias inibitórias e a incorporação de métodos para remover ou neutralizar toxicantes antes da digestão anaeróbica podem melhorar significativamente a eficiência do tratamento de resíduos.

3 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

As crescentes preocupações globais com o meio ambiente sobre o aumento da quantidade de resíduos, o aquecimento global e a dependência de combustíveis fósseis como principal fonte de energia vem incitando pesquisas sobre o processo de digestão anaeróbica.

Por meio deste estudo, se nota que a conjectura e a metodologia da produção de biogás através da biodigestão anaeróbica são maduras e bem desenvolvidas. A biodigestão anaeróbica dos compostos e resíduos orgânicos para a produção de biogás é descrita como uma tecnologia que pode auxiliar a diminuir a dependência de combustíveis fósseis e, conseqüentemente, fornece energia com menores impactos ambientais. Entretanto, essa tecnologia ainda carece de novas pesquisas de investigação de melhores substratos e otimização do processo.

Um das grandes vantagens da produção de biogás através da biodigestão anaeróbica, além da geração de energia renovável, baixo consumo de energia, valorização e tratamento de resíduos orgânicos e produção de um biofertilizante, é a possibilidade de obtenção de um biocombustível que pode ser produzido de forma descentralizada e local, isso contribui para a diversificação da matriz energética. Ou seja, ocorre a proximidade entre a produção e a fonte de consumo, diminuindo as perdas na transmissão e distribuição de energia, ocasionando a redução de custos energéticos.

Na produção de biogás, se comparado com outros biocombustíveis, pode ser utilizado uma gama de substratos, desde que sejam biodegradáveis. Além disso, o biogás pode ser convertido em energia térmica ou elétrica. Também pode ser convertido em biometano para utilização em automóveis, caminhões e máquinas agrícolas. Contudo, o desenvolvimento desse setor é fundamental para atingir altos níveis de amadurecimento tecnológico, possibilitando a ampliação do processo de biodigestão.

AGRADECIMENTOS

À UFVJM e ao Programa de Pós-Graduação em Biocombustíveis pela estrutura e recursos. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento

de Pesquisa de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradecemos à FAPEMIG, CAPES e a toda equipe de discentes e docentes que colaboraram com o desenvolvimento do trabalho.

REFERÊNCIAS

ALVIM, J. C.; ALVIM, F.; SALES, V. H. G.; SALES, P. *et al.* Biorrefinarias: Conceitos, classificação, matérias primas e produtos. **Journal of Bioenergy and Food Science**, 1, n. 3, p. 61-77, 2014.

ANGELIDAKI, I.; ALVES, M.; BOLZONELLA, D.; BORZACCONI, L. *et al.* Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. **Water science and technology**, 59, n. 5, p. 927-934, 2009.

BARCELOS, B. R. d. Avaliação de diferentes inóculos na digestão anaeróbia da fração orgânica de resíduos sólidos domésticos. 2009.

BARROS, V. G. d.; DUDA, R. M.; OLIVEIRA, R. A. d. Biomethane production from vinasse in upflow anaerobic sludge blanket reactors inoculated with granular sludge. **Brazilian Journal of Microbiology**, 47, n. 3, p. 628-639, 2016/07/01/ 2016.

BRAMLEY, J.; SHIH, J.; FOBI, L.; AXUM, T. *et al.* Agricultural biogas in the United States. A Market Assessment. **Tufts University Urban & Environmental Policy & Planning.–Field Project Team**, 6, 2011.

BUENO, R. d. F. Comparação entre biodigestores operados em escala piloto para produção de biogás alimentado com estrume bovino. **Holos Environment**, 10, n. 1, p. 111-125, 2010.

CALZA, L. F.; DE LIMA, C. B.; NOGUEIRA, C. E. C.; SIQUEIRA, J. A. C. *et al.* Avaliação dos custos de implantação de biodigestores e da energia produzida pelo biogás. **Engenharia Agrícola**, 35, n. 6, 2016.

CASTRO E SILVA, P. **Desempenho de um filtro anaeróbio de fluxo ascendente como unidade de tratamento para efluente da suinocultura**. 2014. 102 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologias e Inovações Ambientais) (mestrado) -, Universidade Federal de Lavras.

CHEN, Y.; CHENG, J. J.; CREAMER, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. **Bioresource Technology**, 99, n. 10, p. 4044-4064, 2008/07/01/ 2008.

DE BHOWMICK, G.; SARMAH, A. K.; SEN, R. Lignocellulosic biorefinery as a model for sustainable development of biofuels and value added products. **Bioresource Technology**, 247, p. 1144-1154, 2018/01/01/ 2018.

DE VRIEZE, J.; RAPORT, L.; WILLEMS, B.; VERBRUGGE, S. *et al.* Inoculum selection influences the biochemical methane potential of agro-industrial substrates. **Microbial biotechnology**, 8, n. 5, p. 776-786, 2015.

FERNANDES, G.; MARIANI, L. O alto potencial de produção e uso fará do biogás a próxima fronteira da energia renovável no Brasil? 2019.

FERRER, I.; PONSÁ, S.; VÁZQUEZ, F.; FONT, X. Increasing biogas production by thermal (70 C) sludge pre-treatment prior to thermophilic anaerobic digestion. **Biochemical Engineering Journal**, 42, n. 2, p. 186-192, 2008.

FUESS, L. T. **Biodigestão anaeróbia termofílica de vinhaça em sistemas combinados do tipo acidogênico-metanogênico para potencialização da recuperação de bioenergia em biorrefinarias de cana-de-açúcar de primeira geração**. 2017. -, Universidade de São Paulo.

GRANATO, E. F.; SILVA, C. L. Geração de energia elétrica a partir do resíduo vinhaça. **Proceedings of the 4th Encontro de Energia no Meio Rural**, 2002.

JANKE, L.; LEITE, A. F.; BATISTA, K.; SILVA, W. *et al.* Enhancing biogas production from vinasse in sugarcane biorefineries: Effects of urea and trace elements supplementation on process performance and stability. **Bioresour Technol**, 217, p. 10-20, Oct 2016.

JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A.; VON SPERLING, M. Tratamento de esgotos domésticos. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. **Eng. Sanit. Ambiente., Rio de Janeiro**, 11, n. 1, 2006.

KAPOOR, R.; GHOSH, P.; TYAGI, B.; VIJAY, V. K. *et al.* Advances in biogas valorization and utilization systems: A comprehensive review. **Journal of Cleaner Production**, 273, p. 123052, 2020/11/10/ 2020.

KOTHARI, R.; PANDEY, A.; KUMAR, S.; TYAGI, V. *et al.* Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: An overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 39, p. 174-195, 2014.

KOTHARI, R.; PANDEY, A. K.; KUMAR, S.; TYAGI, V. V. *et al.* Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: An overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 39, p. 174-195, 2014.

KWIETNIEWSKA, E.; TYS, J. Process characteristics, inhibition factors and methane yields of anaerobic digestion process, with particular focus on microalgal biomass fermentation. **Renewable and sustainable energy reviews**, 34, p. 491-500, 2014.

LAMO, P. Sistema produtor de gás metano através de tratamento de efluentes industriais. **METHAX/BIOPAQCODISTIL**, Piracicaba, 1991.

MALAJOVICH, M. A. Biotecnologia 2011. **Rio de Janeiro, Edições da Biblioteca Max Feffer do Instituto de Tecnologia ORT**, 2012.

MARCUCCI, L. W. Otimização da produção de biogás em biodigestores batelada. 2018.

MOLINO, A.; NANNA, F.; DING, Y.; BIKSON, B. *et al.* Biomethane production by anaerobic digestion of organic waste. **Fuel**, 103, p. 1003-1009, 2013.

MONTAÑÉS, R.; PÉREZ, M.; SOLERA, R. Anaerobic mesophilic co-digestion of sewage sludge and sugar beet pulp lixiviation in batch reactors: Effect of pH control. **Chemical Engineering Journal**, 255, p. 492-499, 2014.

MORAES, B. S.; ZAIAT, M.; BONOMI, A. Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane ethanol production in Brazil: Challenges and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 44, p. 888-903, 2015.

MOREDA, I. L. The potential of biogas production in Uruguay. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 54, p. 1580-1591, 2016/02/01/ 2016.

NEVES, N. Produção de hidrogênio e metano via codigestão anaeróbia em reatores de dois estágios a partir de resíduo alimentar e lodo do tratamento de vinhaça. 2016.

PANDEY, P. K.; NDEGWA, P. M.; SOUPIR, M. L.; ALLDREDGE, J. R. *et al.* Efficacies of inocula on the startup of anaerobic reactors treating dairy manure under stirred and unstirred conditions. **Biomass and Bioenergy**, 35, n. 7, p. 2705-2720, 2011/07/01/ 2011.

PARKIN, G., 1983, **Response of methane fermentation to continuous addition of selected industrial toxicants**. 729-743.

PINTO, C. P. Tecnologia da digestão anaeróbia da vinhaça e desenvolvimento sustentável. **São Paulo, Faculdade de engenharia mecânica, Universidade Estadual de Campinas**, 1999.

RAJESHWARI, K.; BALAKRISHNAN, M.; KANSAL, A.; LATA, K. *et al.* State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. **Renewable and sustainable energy reviews**, 4, n. 2, p. 135-156, 2000.

SALOMON, K. R. **Avaliação técnico-econômica e ambiental da utilização do biogás proveniente da biodigestão da vinhaça em tecnologias para geração de eletricidade**. 2007. -, UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ.

SALOMON, K. R.; LORA, E. E. S. Estimate of the electric energy generating potential for different sources of biogas in Brazil. **Biomass and Bioenergy**, 33, n. 9, p. 1101-1107, 2009.

SILVA, C. E. d. F.; ABUD, A. K. d. S. Anaerobic biodigestion of sugarcane vinasse under mesophilic conditions using manure as inoculum. **Revista Ambiente & Água**, 11, p. 763-777, 2016.

SYAICHURROZI, I. Biogas production from co-digestion *Salvinia molesta* and rice straw and kinetics. **Renewable Energy**, 115, p. 76-86, 2018/01/01/ 2018.

TUNES, C. R. Produção de biogás a partir da digestão anaeróbica de efluentes orgânicos em reator UASB. 2017.

WARD, A. J.; HOBBS, P. J.; HOLLIMAN, P. J.; JONES, D. L. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. **Bioresour Technol**, 99, n. 17, p. 7928-7940, 2008/11/01/ 2008.

YANG, L.; XU, F.; GE, X.; LI, Y. Challenges and strategies for solid-state anaerobic digestion of lignocellulosic biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 44, p. 824-834, 2015.

RELATO DE INFESTAÇÃO POR PIOLHOS *Gliricola porcelli* EM PORQUINHÃO-DA-ÍNDIA (*Cavia porcellus*) EM RONDÔNIA, BRASIL

Data de aceite: 01/09/2021

Data de submissão: 15/07/2021

Ketly Lorrainy Rodrigues de Oliveira Lima

Grupo de Estudo sobre Animais Silvestres (GEAS UNIR), Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Rondônia-UNIR, *Campus* Rolim de Moura Rolim de Moura, Rondônia
<http://lattes.cnpq.br/0210599200961297>

Renato da Silva

Grupo de Estudo sobre Animais Silvestres (GEAS UNIR), Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Rondônia-UNIR, *Campus* Rolim de Moura Rolim de Moura, Rondônia
<http://lattes.cnpq.br/7672339417229606>

Kétury Silva dos Passos

Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Rondônia-UNIR, *Campus* Rolim de Moura Rolim de Moura, Rondônia
<http://lattes.cnpq.br/0801385116343755>

Jussania Barbosa Oliveira

Centro de Ensino Veterinário e Agropecuário LTDA (Cenva) Viçosa, Minas Gerais
<http://lattes.cnpq.br/7451579368647688>

Rafael M. Godoi

Médico Veterinário e Proprietário da VetClin Rolim de Moura, Rondônia
<http://lattes.cnpq.br/3113993336508194>

Mayra Araguaia Pereira Figueiredo

Grupo de Estudo sobre Animais Silvestres (GEAS UNIR), Departamento de Medicina Veterinária e Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Federal de Rondônia-UNIR, *Campus* Rolim de Moura Rolim de Moura, Rondônia
<http://lattes.cnpq.br/0400550473507828>

RESUMO: Os piolhos são ectoparasitos de animais homeotérmicos, domésticos e silvestres, podem ser vetores importantes de vários patógenos, sendo alguns desses de caráter zoonótico. Objetivou-se relatar a infestação por *Gliricola porcelli* em *Cavia porcellus*, na rotina clínica veterinária, em município da zona da mata de Rondônia, Brasil. Recebeu-se para atendimento em uma clínica veterinária um porquinho-da-índia (*Cavia porcellus*) cujo o tutor tinha como queixa principal a inquietação e um prurido intenso no animal. As infestações por ectoparasitos frequentemente apresentam os sinais anteriormente descritos, podendo ser leves e até assintomáticas. Para o diagnóstico foram realizados exames físicos e coleta dos espécimes ectoparasitos para identificação utilizando chaves dicotômicas. Os espécimes coletados foram identificados como lêndeas, machos e fêmeas de *Gliricola porcelli*. Este parasito não apresenta ameaça direta à vida do hospedeiro, no entanto, coloca em risco o bem-estar do animal e, por consequência, pode favorecer infecções secundárias, e também a estética devido a provocar alopecias. Foi então realizado o tratamento medicamentoso com

ivermectina por via subcutânea a cada sete dias, perfazer três tratamentos. Foi recomendada a limpeza e desinfecção do ambiente onde o animal fica alojado.

PALAVRAS-CHAVE: Pediculoses, pets não convencionais, piolhos, ivermectina

REPORT OF LICE INFESTATION *Gliricola porcelli* IN GUINEA PIGS (*Cavia porcellus*) IN RONDÔNIA, BRAZIL

ABSTRACT: Lice are ectoparasites of homeothermic animals, domestic and wild, and can be important vectors of several pathogens, some of which are zoonotic potential. The objective of this study was to report the infestation by *Gliricola porcelli* in *Cavia porcellus*, in the veterinary clinical routine, in the municipality of Rolim de Moura Rondônia, Brazil. A guinea pig (*Cavia porcellus*) was received for care at a veterinary clinic, whose main complaint the guardian had was restlessness and intense itching in the animal. Infestations by ectoparasites often present the signs described above, and may be mild and even asymptomatic. For diagnosis, physical examinations and collection of ectoparasite specimens were performed for identification using dichotomous keys. The specimens collected were identified as nits, males and females of *Gliricola porcelli*. This parasite does not pose a direct threat to the host's life, however, it puts the animal's well-being at risk and, consequently, can favor secondary infections, as well as aesthetics due to causing alopecia. The drug treatment was then carried out with subcutaneous ivermectin every seven days, making three treatments. Cleaning and disinfection of the environment where the animal is housed was recommended.

KEYWORDS: Pediculosis, unconventional pets, lice, ivermectin.

1 | INTRODUÇÃO

Cavia porcellus é popularmente chamado de porquinho-da-Índia ou cobaio doméstico. É um roedor que pertence à família Caviidae, que é criado como animal de laboratório ou como animal de estimação. Está cada vez mais comum a busca por porquinho-da-Índia como animal de companhia, como consequência, também se torna frequente o atendimento desse animal em clínicas veterinárias. Esse animal pode ser hospedeiro de uma variedade de agentes patogênicos, como bactérias, fungos, piolhos e ácaros (SINGH et al., 2013; BONVICINO et al., 2008).

Os piolhos são ectoparasitos de animais homeotérmicos, domésticos e silvestres, podem ser vetores importantes de vários patógenos, sendo alguns desses de caráter zoonótico. São pertencentes à classe Insecta, ordem Phthiraptera, tendo como característica desenvolver-se sobre o hospedeiro, durante todo seu ciclo de vida. Seus hábitos alimentares variam de piolhos mastigadores (subordem Amblycera e Ischnocera), que se nutrem de detritos celulares, pelos e plumas, e os que são sugadores de sangue (subordem Anoplura), que são mais graves por causar anemia (VALIM et al., 2004). Entre as espécies de piolhos mais comuns que infestam o porquinho-da-Índia destacam-se *Gliricola porcelli*, *Gyropus ovalis* e *Trimenopon hispidum* (PRINCE et al., 1997).

Gliricola porcelli parasito espécie-específica, ou seja, só parasita esse grupo animal,

não sendo um causador de zoonose. (VALIM et al., 2004). As infestações geralmente são leves ou assintomáticas, mas, em grandes infestações podem causar um intenso prurido, obrigando o animal a se coçar frequentemente, podendo ferir a pele, permitindo uma porta de entrada para infecções secundárias, também podem ocasionar formações crostosas na pele e alopecia (PADILLA, 2012; RIGBY, 1976).

O presente trabalho objetivou descrever um caso de infestação de piolhos *Gliricola porcelli* em porquinho-da-índia criado como pet não convencionais na rotina clínica veterinária no município de Rolim de Moura, Rondônia, Brasil.

2 | RELATO

Um Porquinho-da-Índia (*Cavia porcellus*), macho, de dois anos de idade, criado como animal de companhia, deu entrada na clínica veterinária, em abril de 2021, sob a queixa principal de prurido e inquietação há mais ou menos uma semana. No exame físico inspecionou-se toda sua superfície corporal, na qual foi observado a presença de ectoparasitos. Então, coletou-se uma amostra de pelo, usando um pente de dentes finos, da superfície corporal do animal.

A amostra de pelo do animal foi observada sob estereomicroscópio e foram encontrados piolhos (machos e fêmeas) e lêndeas identificados como *Gliricola porcelli* (Figura 1). Foram identificados através das características morfológicas, nos quais apresentaram: dimensões aproximadas de 1 a 2 mm de comprimento, e 0,3 a 0,4 mm de largura, podendo as fêmeas ser cerca de 20% superiores aos machos. Sendo um piolho de cor clara, longo e achatado dorsoventralmente, com a cabeça posicionada horizontalmente, o que o permite maior contato possível entre eles e os pelos do hospedeiro, aumentando a sua aderência (JOHNSON; CLAYTON, 2003; COLE et al, 2013).



Figura 1. *Gliricola porcelli* sob estereomicroscopia.

3 | DISCUSSÃO

Das amostras obtidas no estudo foram encontrados lêndeas, machos e fêmeas, os dois últimos são semelhantes, exceto pelos machos não apresentarem um par de cerdas compridas do último pleurito, como as fêmeas (WERNECK, 1936).

A espécie *Gliricola porcelli* possui palpos maxilares, partes bucais móveis em plano vertical, perpendicular à superfície ventral da cabeça. Possuem antenas, porém estas se encontram ocultas em depressões laterais tornando-se difícil sua visualização. Apresentam três pares de patas bem desenvolvidas no tórax, que terminam numa garra tarsal. E as asas estão ausentes (JOHNSON; CLAYTON, 2003; COLE et al, 2013).

Infestação em porquinho-da-Índia por *G. porcelli* já foi relatado em diversas regiões do Peru, na Espanha, e também no Brasil, nos estados de Rio Grande do Norte e Rio de Janeiro (MARTORELL et al., 2011; VALIM et al., 2004).

A transmissão de piolhos ocorre por contato direto entre animais. A espécie *Gliricola porcelli* não apresenta ameaça à vida do hospedeiro, por ser piolho mastigador e se alimentar dos detritos da pele e pelo, fazendo com que esses animais apresentem-se esteticamente inadequados como pets por ficarem com alopecia, no entanto, podem causar quadros clínicos caracterizados por prurido, eritema, inapetência, emagrecimento, além do estresse que influencia no bem-estar e no sistema imunológico, predispondo à infecções secundárias. A maior suscetibilidade dos animais à infestação grave é em idade mais jovem, idosos e com doenças pré-existentes, sem sinais clínicos evidentes além de anemia em alguns casos (VALIM et al., 2004; COLE et al., 2013).

O tratamento desta pediculose deve ser realizado administrando-se dosagens de ivermectina e outros medicamentos, visando assim diminuir as infestações (HOPPMAN; BARRON, 2007),

É importante ressaltar que a discussão desse relato de caso foi difícil devido a escassa literatura existente e ausência de estudos atuais sobre o tema.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, registra-se a ocorrência do piolho *Gliricola porcelli* em diferentes estádios de vida, parasitando um porquinho-da-índia (*Cavia porcellus*), e evidencia-se a importância de relatos de infestações em pets não convencionais na clínica veterinária.

Esses pets não convencionais vêm ganhando destaque como animais de estimação, visto que, são pequenos e não tem muitos custos, no entanto, sua saúde deve ser monitorada, pois as relações com outros animais e com os humano proporcionam trocas de patógenos e podem ocorrer doenças causadas por ecto e endoparasitos, sendo alguns importantes como zoonoses.

REFERÊNCIAS

CLAYTON, D. H.; JOHNSON, K. P.; PALMA, R. L.; HELLENTHAL, R. A.; PRICE, R. D.. **The Chewing Lice: World Checklist and Biological Overview**. Illinois Natural History Survey, Salt Lake City, Special Publication 24, p. 451-475, 2003. DOI: <http://doi.org/10.5962/bhl.title.154191>

BONVICINO, C.R.; OLIVEIRA, J.A.; D'ANDREA, P.S. Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. **Centro Pan-Americano de Febre Aftosa - OPAS/OMS**, Rio de Janeiro, 2008.

COLE D.; REA-KEYWOOD, J.; METZ, M. A. Common Mites of Your Rabbit and Small Animal Part II: Cavy Lice. Rutgers New Jersey. **Agricultural Experiment Station**, New Brunkswick, 2013.

EMERSON K. C.; PRICE R. D. Mallophaga of Venezuelan mammals. **Brigham Young University Science Bulletin, Biological Series**, v.20, n.3, p. 1-77, 1975.

EWING H. E. On the taxonomy, biology, and distribution of the biting lice of family Gyropidae. **Proceedings of the National Museum**, Arlington, v.63, n.20, p.1-42, 1924. DOI: <http://doi.org/10.5479/si.00963801.63-2489.1>

HOPPMAN E.; BARRON H. W. Rodent Dermatology. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v.16, n.4, p.238-255, 2007. DOI: <http://doi.org/10.1053/j.jepm.2007.10.003>

PADILLA J. H. M. Evaluación de la ganancia de peso en cobayos, con una dieta basada en forraje; y pollinaza como suplemento alimenticio. **Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales**. UTC. Latacunga, 126p. 2012.

PRICE, M. A.; GRAHAM, O.H. hewing and sucking lice as parasites of mammals and birds. **USDA Agricultural Research Service Technical Bulletin**, 1997.

RIGBY C. Natural infections of Guinea pigs. **Laboratory Animals**, v.10, n.2, p.119-142, 1976. DOI: <http://doi.org/10.1258/002367776781071503>

SINGH, S.K.; DIMRI, U.; AHMED, Q. S.; SAYEDDA, K.; SINGH, K.V. Efficacy of doramectin in *Trixacarus caviae* infestation in guinea pigs (*Cavia porcellus*). **Journal of Parasitic Diseases**, 37(1): 148-150, 2013. DOI: <http://10.1007/s12639-012-0155-7>

VALIM M. P.; AMORIM M.; SERRA-FREIRE N. M. Parasitismo por Acari e Phthiraptera em cobaios [*Cavia Porcellus* (Linnaeus, 1758)] de ambientes rural e urbano nos municípios de Silva Jardim e Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, Rio de Janeiro, v.41, n.4, p. 240-246, ago. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-95962004000400004>

WERNECK F. L. Contribuição ao conhecimento dos Mallophagos encontrados nos mamíferos sul-americanos. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.3, n.31, p.391-589, 1936. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0074-0276>

INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS ASSOCIADAS AO BARBATIMÃO (*STRYPHNODENDRON SP.*) NATIVO DO CERRADO

Data de aceite: 01/09/2021

Data de submissão: 18/06/2021

Lavinia Cipriano

Universidade Federal de São Carlos,
Departamento de Morfologia e Patologia
São Carlos – SP
<http://lattes.cnpq.br/2772760928009199>

Gabriela Moraes Silva

Universidade Federal de São Carlos,
Departamento de Morfologia e Patologia
São Carlos – SP
<http://lattes.cnpq.br/3356342091755252>

Cristina Paiva de Sousa

Universidade Federal de São Carlos,
Departamento de Morfologia e Patologia
São Carlos – SP
<http://lattes.cnpq.br/9002619114161319>

Felipe de Paula Nogueira Cruz

Universidade Federal de São Carlos,
Departamento de Morfologia e Patologia
São Carlos – SP
<http://lattes.cnpq.br/1342240429352346>

RESUMO: O Cerrado, também conhecido como Savana Tropical, é o segundo maior bioma do Brasil. Entre as espécies do Cerrado, várias apresentam propriedades medicinais. Nesse contexto, o barbatimão (*Stryphnodendron sp.*) é conhecido por ser antiinflamatório, cicatrizante, antiviral, antimicrobiano e por apresentar ação antiprotozoária, sendo amplamente utilizada

em tratamentos dermatológicos bem como no couro, na indústria e na fabricação de tintas para escrever. Além disso, os tecidos vegetais representam uma fonte importante de produtos naturais de interesse biotecnológico, e a maioria desses compostos é produzida por microorganismos vivem em interação íntima com a planta hospedeira sem causar qualquer sintoma de doença. Esses microrganismos são chamados de endofíticos. Este estudo visa isolar as bactérias endofíticas associadas a *Stryphnodendron sp.* e investigar o potencial antimicrobiano e propriedades de extratos de produtos naturais produzidos por esses microrganismos contra bactérias e fungos fitopatogênicos. **Coleta e processamento:** o isolamento de endófitos associado a *Stryphnodendron sp.* foi feito a partir das estruturas e solo rizosférico, com base em Araújo et al., 2014 e Andreote et al., 2008. **Triagem antimicrobiana:** O teste de sobrecamada foi realizado contra *S. aureus* ATCC 29213, *E. coli* ATCC 11775 e *C. albicans* ATCC 10231. **Bioatividade dos extratos:** Após a produção dos extratos, 500 µg dos extratos, oxacilina e DMSO estéril foram depositados em discos estéreis e colocados na placa contendo os patógenos previamente inoculados. **Resultados:** Isolamos 28 bactérias, das quais 4 exibiram antagonismo para patógenos na triagem primária. **Conclusões parciais:** Nossos estudos preliminares mostraram que as bactérias endofíticas de *Stryphnodendron sp.* teve resultados positivos contra patógenos e, portanto, pode influenciar positivamente nas propriedades medicinais da planta estudada. **PALAVRAS-CHAVE:** Barbatimão; Cerrado;

patógenos; *Stryphnodendron*.

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF ENDOPHYTIC BACTERIA ASSOCIATED WITH BARBATIMÃO (*STRYPHNODENDRON* SP.) NATIVE OF THE CERRADO

ABSTRACT: The Cerrado is also known as Tropical Savanna is the second largest biome in Brazil. Among the species of Cerrado, there are several with medicinal properties. In this context, the barbatimão (*Stryphnodendron* sp.) is recognized for anti-inflammatory, healing, antiviral, antimicrobial and antiprotozoal action, being widely used in dermatological treatments as well as in the leather industry and in the manufacture of paints to write. Moreover, plant tissues represent a major source of natural products for biotechnological interest, and most of these compounds is produced by microorganisms lives in intimate interaction with the host plant without causing any apparent disease symptoms. These microorganisms are call endophytics. This study aims to isolate the endophytic bacteria associated with *Stryphnodendron* sp. and investigate the antimicrobial properties of natural products extracts produced by these microorganisms toward pathogenic bacteria and phytopathogenic fungi.

Collecting and processing: The isolation of endophytes associated with *Stryphnodendron* sp. structures and rhizospheric soil were carried out based on Araújo et al., 2014 and Andreote et al., 2008.

Antimicrobial screening: The Overlay test was carried out by testing the isolates against *S. aureus* ATCC 29213, *E. coli* ATCC 11775 and *C. albicans* ATCC 10231.

Bioactivity of extracts: After obtaining the extracts, 500 µg of the extracts, oxacillin and sterile DMSO were deposited in sterile discs and placed onto the plate containing the pathogens previously inoculated.

Results: We isolated 28 bacteria which 4 exhibited antagonism toward pathogens in primary screening.

Partial conclusions: Our preliminary studies showed that the endophytic bacteria of *Stryphnodendron* sp. had positive results against pathogens and, therefore, can positively influence the medicinal properties of the plant studied.

KEYWORDS: Barbatimão; Cerrado; pathogens; *Stryphnodendron*.

1 | INTRODUÇÃO

Microrganismos endofíticos são bactérias e fungos protocooperadores que vivem no interior das plantas, aparentemente sem causar danos aos hospedeiros e podem produzir metabólitos secundários (CHALLIS e HOPWOOD, 2003; AZEVEDO .2013; SOUSA et al., 2017; ASSIS, 2018). Estes microrganismos foram descritos pela primeira vez no século XIX, por Bary, 1866. De acordo com NETO *et al.*, 2003, eles recebem nutrientes e proteção da planta hospedeira, fornecendo em troca compostos químicos que podem proteger e auxiliar a planta. Esta associação entre microrganismos e plantas gera diversas possibilidades para estudos científicos que buscam aplicações biotecnológicas na área da saúde pública, para a promoção do crescimento vegetal, e no controle de pragas e fitopatógenos, utilizando os metabólitos secundários produzidos devido a esta interação (CERIGIOLI, 2005 ; ASSIS, 2018).

Tendo os endofíticos como uma nova fonte de biometabólitos, cresce a busca

por tratamentos alternativos, seja para agentes que já desenvolveram resistência a medicamentos já existentes ou contra aqueles que não possuem um bom método de tratamento (ASSIS, 2018). Como exemplo do último caso, há a leishmaniose, uma Doença Tropical Negligenciada (DTN), transmitida por vetores. A leishmaniose visceral (LV) afeta principalmente o fígado, o baço e a medula óssea. Afeta principalmente a população marginalizada e o número de casos vêm crescendo pois não existem vacinas eficientes, o controle dos vetores é difícil e devido ao fato de que algumas espécies de *Leishmania* estão se tornando resistentes as drogas utilizadas para tratamento. A *Leishmania infantum* é um dos principais vetores da doença, que pode ser fatal se não tratada. Atualmente os tratamentos administrados são com medicamentos antigos ou formulações de antimoniais ou anfotericina B, que não são o ideal, devido a toxicidade, alto custo e a resistência do parasita. Desta forma, a busca por novos tratamentos contra *Leishmania* a partir de fontes naturais tem crescido a cada dia. Sabe-se que compostos a base de plantas são alternativas viáveis a tratamentos com compostos químicos, mas é necessário encontrar concentrações seguras e padronizadas para serem administradas em tratamento clínico (MOHAMMAD *et al.*, 2019).

O Cerrado é um mosaico de biomas (BATALHA, 2011), segundo maior bioma brasileiro, ocupando cerca de 23% do território do Brasil (em torno de 2 milhões de km²), ocorrendo desde as imediações da floresta Amazônica até o Paraná. Sua grande extensão favorece a ocorrência de uma das mais ricas diversidades de fauna e flora, sendo ultrapassado apenas pela Floresta Amazônica (RATTER, *et al.*, 1997). Segundo Castro, *et al.* (1999), o Cerrado abriga cerca de 5.250 espécies herbáceas e arbustivas, e 2.000 espécies arbóreas, demonstrando sua importância ecológica.

É um *hotspot* que vem sofrendo com a degradação devido a queimadas e ação antrópica (RIBEIRO e WALTER, 1998), visto que teve sua cobertura original reduzida em cerca de 37% (FELFILI, *et al.*, 2002). Conta com a presença de diversas espécies endêmicas, sendo de suma importância sua conservação. Dentre as espécies abrigadas no Cerrado, encontram-se várias árvores e arbustos com propriedades medicinais (RATTER, *et al.*, 1997).

O Barbatimão, do gênero *Stryphnodendron* é uma planta nativa do Cerrado, e suas espécies são conhecidas por sua ação anti-inflamatória, cicatrizante, antiviral, antimicrobiana e antiprotozoária (MELO *et al.*, 2007), sendo amplamente utilizadas em tratamentos dermatológicos, e também na indústria do couro e na fabricação de tintas para escrita (CARVALHO *et al.*, 2009; FAVORETTO, 2010; TORRES, 2018).

Sendo assim, o presente trabalho busca compreender se há relação entre as propriedades medicinais do Barbatimão e a atividade de microrganismos endofíticos presentes nesta planta.

2 | METODOLOGIA

A coleta de material foi feita na reserva do Cerrado dentro da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, Campus São Carlos (21° 58' S, 47° 52' W, 850m acima do nível do mar). A região apresenta clima tropical, períodos secos no inverno e úmidos no verão.

Foram coletados ramos, e solo rizosférico, que foram armazenados em sacos plásticos esterilizados e transportados para o LaMiB.

O isolamento ocorreu de acordo com as seguintes etapas: Primeiro foi feita a lavagem com água corrente para remoção de substâncias que poderiam eventualmente estar aderidas a superfície. Para eliminar os microrganismos epifíticos, e também realizar desinfecção, foram realizadas imersões seguidas em álcool 70% por 1 min, solução de hipoclorito de sódio 3% por 1 min, álcool 70% novamente por 30 s, e 3 lavagens com água destilada (ARAÚJO *et al.*, 2002). (O tempo de imersão pode sofrer variações de acordo com a planta estudada, para que não sejam eliminados também os microrganismos endofíticos). Após a desinfecção, 25g das amostras foram trituradas e homogeneizadas em 225ml de solução salina (PBS) 0,85%. Amostras do solo rizosférico também foram pesadas, e 25g foram homogeneizadas em solução salina. Ambas as soluções foram incubadas a 28°C, a 180 rpm, por 2 horas. Após esse processo, a solução obtida foi filtrada e diluída em diluição decimais seriadas, de 1 até 10⁻³. Alíquotas de cada diluição foram inoculadas em triplicata em Placas de Petri com meios TSA (Tryptic Soy Agar) e AACK (Ágar-Amido-Caseína KNO₃). Depois as colônias foram isoladas, e analisadas a partir de características macroscópicas, fisiológicas, bioquímicas e morfológicas (Araújo *et al.*, 2014; Andreote *et al.*, 2008).

2.1 Teste de bioatividade

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada pelo método de sobrecamada (Piza *et al.*, 2015). Os endofíticos isolados foram inoculados em placas de ISP2 por picada, e incubados a 28°C por 2 dias. Cepas padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 11775 e *Candida albicans* ATCC 10231 foram reativadas em tubos BHI (Brain-Heart-Infusion) caldo, e incubadas a 37°C por 24h. Após a incubação, as culturas reativadas foram transferidas para um tubo contendo BHI semissólido na concentração 1:10. A solução foi então homogeneizada e vertida sobre os endofíticos. As placas foram incubadas a 37°C por 24h para observação de halos de inibição.

2.2 Cinética de Crescimento

Alíquotas de 200 µL do isolado 14 conservado em glicerol 20% em criotubo, ultrafreezer, foram transferidos para placas de Petri contendo o meio sólido de crescimento ISP2 à 28°C durante 12 horas. Posteriormente, uma alçada de colônia foi transferida para frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL do meio de cultura ISP2 e incubado a 28 °C, 120 RPM durante 12 horas. A segunda etapa consistiu na transferência de 1 mL do pré-inóculo em 200 mL do meio ISP2 e incubados sob as mesmas condições. A avaliação

da concentração celular ocorreu do seguinte modo: alíquotas de 1 mL das amostras foram coletadas a cada hora e centrifugadas a 10600 rpm durante 10 minutos, onde a parte celular foi utilizada para a avaliação da concentração celular seca. A concentração celular foi determinada pela medição da densidade ótica em espectrofotômetro a 600 nm e pesagem da massa celular seca. Os testes foram realizados em triplicata.

2.3 Obtenção do extrato bruto

Para a produção do extrato de produtos naturais, esporos dos isolados que estavam estocados em glicerol 20% a -80° C foram transferidos para tubos de fundo côncavo com capacidade de 12 mL contendo 3 mL de ISP2 e incubados em agitação de 180 rpm/ 28 °C durante 3 dias, para a obtenção de pré-inóculos. Posteriormente, 5mL do pré-inóculo foi adicionado em 95 mL de ISP2 em Erlenmeyers com capacidade de 250 mL. O cultivo foi mantido sob as mesmas condições durante 7 dias. Após esse período, a cultura foi centrifugada a 4.500 rpm durante 10 min. Posteriormente, foram confeccionados pacotes de malha de polipropileno contendo 1,5 g de resina Amberlite® XAD16 (Sigma-Aldrich™) e, em seguida adicionou-se ao extrato bruto e incubação *overnight* em agitador rotativo. Após esse período, os pacotes de resina foram removidos e acondicionados em tubos de vidro contendo 20 ml de MeOH: EtOAc (1: 1) (PARK *et al.*, 2016).

2.3.1 Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato bruto

A avaliação da bioatividade do extrato bruto fresco foi realizada pelo método de difusão em disco. Os extratos utilizados estavam na concentração de 50mg/ml, e para o teste contra bactérias foi utilizado a concentração de 200µg/disco, portanto, foi inoculado 4µL do extrato em cada disco. Filtros de papel com 5 mm de diâmetro serão depositados, com auxílio de uma pinça esterilizada, sobre placa contendo ágar BHI e previamente semeadas com *E. coli* ATCC, *C. albicans* ATCC, e *S. aureus* ATCC e, posteriormente, alíquotas do extrato bruto foram pipetadas no disco. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas para verificar a formação de halos de inibição. Os bioensaios foram realizados em triplicata e, para controle, foram utilizados os antibióticos de uso comercial Oxacilina, e Amoxicilina, e água destilada como controle negativo.

2.4 Co - Cultivo e avaliação do extrato bruto

O isolado 14 foi submetido ao cultivo misto com a bactéria endofítica 21 segundo o protocolo adaptado de Caraballo-Rodriguez *et al.*, Três Erlenmeyers com capacidade de 250 mL contendo 95 mL de meio ISP2, foram inoculados com 10% (v/v) do inóculo de um microrganismo endofítico (14) e 0,1% (v/v) de outro endofítico (21). Os frascos foram incubados a 28°C e 180 rpm por 7 dias em *shaker* orbital. Após 7 dias de crescimento, as culturas foram coletadas por centrifugação. O caldo livre de células resultante foi submetido a extração em fase sólida usando 15 g de Amberlite XAD-16. A resina foi então separada

por filtração e sujeita a extração orgânica utilizando MeOH: EtOAc (1: 1). Foi avaliada a bioatividade das amostras dos extratos contra microrganismos potencialmente patogênicos.

2.5 Ação antiparasitária contra *Leishmania chagasi*

Culturas de *L. infantum chagasi* (cepa MHOM/BR/1972/LD, cedidas pelo Dr. José A. Lindoso do Instituto de Medicina Tropical - São Paulo, Brasil) foram mantidas em meio Schneider (Sigma-Aldrich, EUA) suplementado com 10% de soro fetal bovino inativado (Vitrocell-Embrilife, BRA), 10% de urina de indivíduos masculinos (com faixa etária entre 25 e 35 anos) e 1% de penicilina e estreptomicina. As culturas foram mantidas a 26°C em atmosfera com 5% de CO₂.

Para os ensaios leishmanicidas, em cada poço de placas de 96 poços foram adicionados 50 µL da diluição de promastigotas de *L. infantum* em fase estacionária (1x10⁵ promastigotas/poço) e 50 µL de cada diluição dos extratos a ser testada (750, 500, 250, 100, 50, 10 e 1 µg/mL). As placas foram incubadas por 24 e 48 horas à 26°C em uma atmosfera com 5% de CO₂. Para avaliação da viabilidade celular após o tratamento, foi utilizado o teste colorimétrico do MTT (MTT- [3- (4, 5-dimetiltiazol-2-il) 2, 5-difeniltetrazolium bromide], Sigma-Aldrich, EUA), onde a redução do MTT a formazan é proporcional à viabilidade celular (MOSMANN, 1983). A cada poço foram adicionados 10 µL de solução de MTT a 5 mg/mL e as placas incubadas por 4 horas a 25 °C com 5% de CO₂. Após a incubação, foram adicionados 50 µL por poço de dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma-Aldrich) para solubilizar os cristais de formazan e, em seguida, foi realizada a leitura.

Os experimentos foram realizados em triplicata biológica e duplicata experimental. A Anfotericina B (Sigma-Aldrich, EUA) foi utilizada como controle positivo na concentração de 100 µM; como controle negativo foram utilizadas células em meio de cultura sem tratamento e com 1% de DMSO. A leitura das absorbâncias foi realizada em espectrofotômetro (Thermo Scientific™ Multiskan™ GO Spectrophotometer) com comprimento de onda de 550 nm.

A porcentagem de viabilidade celular foi calculada com a absorbância do controle negativo representando 100% da viabilidade celular (% de células vivas = Absorbância do teste x 100/Absorbância do controle negativo). Os resultados obtidos foram analisados através do programa PRISMA, versão 5 - Graph Pad (2005) (San Diego, Califórnia, USA). Foi aplicado o teste One-way ANOVA (One-way Analysis of Variance) e o pós-teste foi realizado pelo método de Tukey (Tukey's Multiple Comparison Test). A significância estatística foi estabelecida em valores de p < 0,05.

Os resultados de EC₅₀ (Tabela 2) obtidos foram analisados utilizando o programa PRISMA, versão 5 - Graph Pad (2005) (San Diego, Califórnia, USA). Foi aplicado o teste One-way ANOVA (One-way Analysis of Variance) e o pós-teste foi realizado pelo método de Tukey (Tukey's Multiple Comparison Test). A significância estatística foi estabelecida em valores de p < 0,05. A porcentagem de viabilidade celular foi calculada com a absorbância do controle negativo representando 100% da viabilidade celular (% de células vivas =

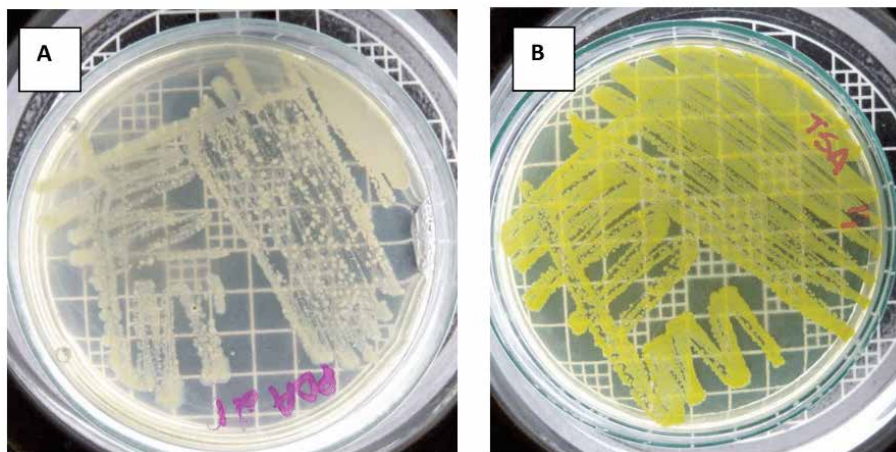
Absorbância do teste x 100/Absorbância do controle negativo).

O valor de EC_{50} corresponde ao índice de citotoxicidade, ou seja a concentração do extrato testado que induz a 50% de lise ou morte celular, neste caso, de *Leishmania* (ROGERO, et al, 2003).

O intervalo de confiança (IC) de uma média informa com precisão a determinação da média. Um intervalo de confiança de 95% é um intervalo de valores que você pode ter 95% de certeza e contém a verdadeira média da população (Motulsky, 2019).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

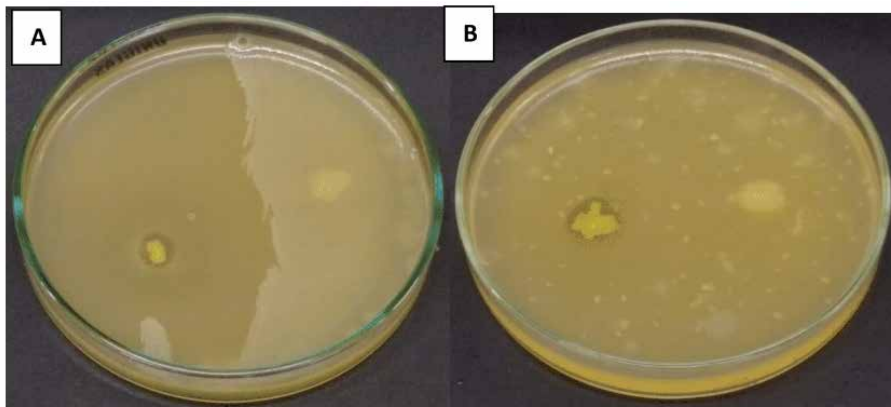
A partir da metodologia descrita a análise do processamento de ramos e solo rizosférico de *Stryphnodendron* sp., foi isolado um total de 28 bactérias, sendo 23 do solo rizosférico e 5 da folha apresentadas na Figura 1 A e B.)



Nestas figuras, vê-se exemplos dos isolados 21 (A) e 14 (B).

3.1 Teste de bioatividade

A partir do teste de bioatividade pelo método de sobrecamada, foi constatado o potencial antimicrobiano dos endofíticos contra bactérias potencialmente patogênicas (Figuras 5, e 6). A Tabela 1 contém os dados que mostram a bioatividade dos endofíticos.



Figuras 5 : (A) Formação de halo de inibição do isolado 10 contra *S. aureus*; (B) Formação de halo de inibição do isolado 14 contra *C. albicans*;

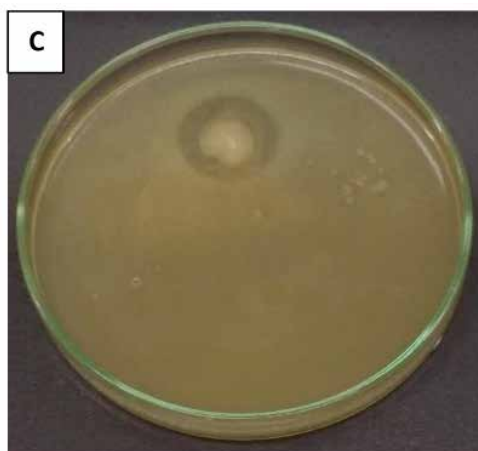


Figura 6 (C) Formação de halo de inibição do isolado 21 contra *E. coli*.

Isolado	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>C.albicans</i>
10 (solo)		Positivo	Positivo
14 (solo)	Positivo	Positivo	Positivo
17 (solo)			Positivo
21 (folha)	Positivo		

Tabela 1: Relação dos resultados positivos obtidos a partir do teste de bioatividade pelo método de sobrecamada.

Sabe-se que os endofíticos são microrganismos que coexistem nos tecidos da planta hospedeira, sem causar danos aparentes, e que podem produzir metabólitos secundários que auxiliam no desenvolvimento da planta, agindo como promotores de crescimento, controlando a contaminação por patógenos ou ataque de insetos, podendo também aumentar a tolerância da planta ao estresse ambiental (White *et al.*, 2019).

Sendo assim, o potencial antimicrobiano que o endófito apresenta contra fitopatógenos também inibe outras bactérias, inclusive as de interesse de saúde pública, abrindo um novo campo de pesquisa na biotecnologia a partir de estudos baseados em controle biológico (LUNARDELLI, *et al.*, 2016).

Na literatura, os dados a respeito da ação de bactérias endofíticas do Barbatimão contra microrganismos potencialmente patogênicos é escassa, apresentando dados da ação de fungos endofíticos desta planta contra esses agentes. No entanto, endofíticos de outras plantas já foram reportados como ativos contra os patógenos. Assis, 2019, por exemplo, isolou endofíticos de *C. brasiliense* que tiveram atividade satisfatória contra *S. aureus* e *C. albicans*, mas nenhum inibiu o crescimento de *E. coli*.

3.2 Cinética de crescimento

A figura 7 representa a curva de crescimento do isolado 14 em caldo ISP2 a 28°C, por 12 horas a 180 rpm. O ensaio foi realizado em triplicata.

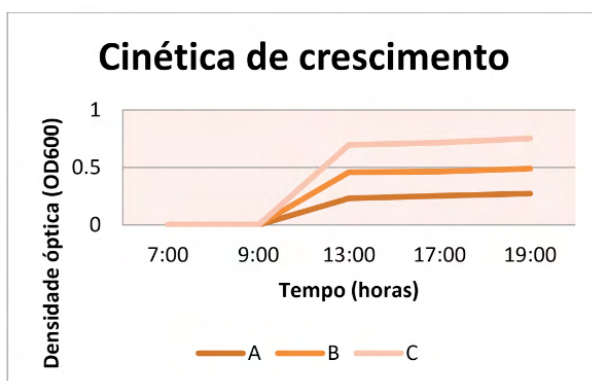


Figura 7. Curva de crescimento do isolado 14.

O gráfico indica que a partir da terceira coleta (13h) o crescimento é constante, indicando assim que a bactéria encontra-se em sua fase estacionária de crescimento. Nesta fase, o número de indivíduos que morre é equivalente ao de células nova, e desta forma, a população torna-se estável (TORTORA *et al.*, 2000).

3.3 Atividade biológica dos extratos

O extrato bruto fresco obtido a partir das 4 bactérias que apresentaram bioatividade contra os microrganismos potencialmente patogênicos não apresentou atividade antimicrobiana contra cepas padrão de *S. aureus* ATCC, *E. coli* ATCC e *C. albicans* ATCC. Sabe-se que a produção de metabólitos secundários ocorre a partir de interações entre os microrganismos, o hospedeiro e o ambiente externo. Desta forma, em condições

experimentais, interações como competição, antagonismo e simbiose são prejudicadas, podendo assim impedir a produção destes metabólitos (ASSIS, 2019).

A técnica de co-cultivo surgiu como uma alternativa para tentar reproduzir as condições de competição no interior da planta hospedeira, pois os resultados obtidos por Park et al. (2017) mostram que a cultura mista pode ter influência direta na produção de metabólitos bioativos. RUTLEDGE e CHALLIS, (2015), a partir de análises genômicas, foi descobriram que os genes responsáveis pela produção dos metabólitos secundários não são expressos em condições experimentais. Desta forma, a cultura mista é uma forma de tentar promover a ativação destes genes e estimular a produção de metabólitos secundários (ASSIS, 2019).

Os extratos obtidos a partir do co-cultivo de (10-14; 21-14;10-21) não apresentou atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 11775 e *Candida albicans* ATCC 10231.

Em testes com *Polygala* sp., de Paula (2018) obteve extratos bioativos a partir de microrganismos endofíticos que apresentaram atividade contra *A. baumannii*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *MRSA*, *S. entérica*, *S. flexneri* e *B. anthracis*. Assis (2019) obteve extratos bioativos com *S. aureus* a partir do co-cultivo de *Streptomyces* spp. e *S. aureus*.

3.4 Ação antiparasitária contra *Leishmania chagasi*

Foram produzidos três extratos a partir de co-cultivo, com os três isolados com melhor atividade antibacteriana: 10, 14 e 21. O co-cultivo com os isolados 10-14 e 21-10 não apresentaram ação antiparasitária, enquanto o extrato 3, com os isolados 14-21 apresentou atividade leishmanicida (Tabela 2).

	24 horas	48 horas
<i>L. infantum chagasi</i>	586,7 (528,6 – 651,2)	240,1 (187,0 – 308,3)

Tabela 2 - Valores de EC_{50} em $\mu\text{g/mL}$ para os períodos de 24 e 48 horas de tratamento de promastigotas de *L. infantum chagasi* com o extrato 3, com intervalos de confiança de 95%.

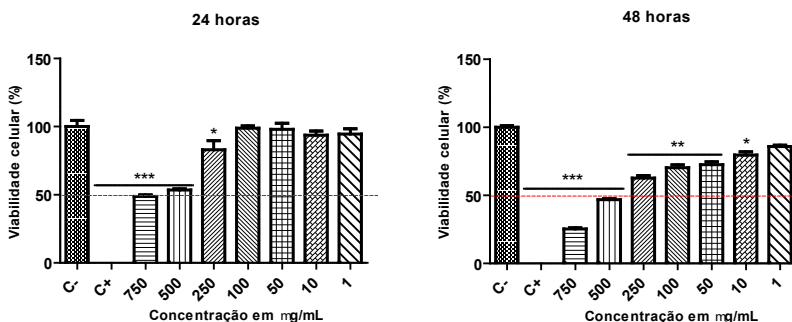


Figura 6 - Atividade do extrato 3 contra promastigotas de *L. infantum chagasi* após 24 e 48 horas de exposição à diferentes concentrações do tratamento. Os sinais ***, ** e * indicam significância estatística com valores de $p < 0,001$, $p < 0,01$ e $p < 0,05$, respectivamente. Os valores representam um experimento realizado em sextuplicata.

Na literatura, o efeito antiparasitário contra *Leishmania* é mais comum a partir da ação de fungos, como por exemplo, no trabalho de Campos *et al*, 2008, no qual foi constatado a presença de metabólitos leishmanicidas no extrato do fungo endofítico *Cochliobolus* sp., isolado de *Piptadenia adiantoides*. De acordo com da Silva *et al*, 2017, os extratos do fungo endofítico *Aspergillus terreus*—F7, isolado de *Hyptis suaveolens*, foram bioativos contra *Leishmania*. Brissow *et al*, 2017, também encontrou um composto antiparasitário no fungo endofítico *Diaporthe phaseolorum*-92C, isolado de *Combretum lanceolatum*, que foram ativos contra *Leishmania*. Em sua pesquisa, Cota *et al*, 2018, constatou que o fungo endofítico isolado da planta *Caesalpinia echinata*, *Nectria pseudotrachia*, apresenta compostos com ação leishmanicida. Em 2015, de Nascimento encontrou fungos endofíticos da planta medicinal *Vernonia polyanthes* que produzem compostos antiparasitários contra *Leishmania*.

Como no presente trabalho foram isoladas apenas bactérias, os testes realizados constataram ação leishmanicida do extrato 3 obtido a partir de duas bactérias endofíticas (isolados 14 e 21).

REFERÊNCIAS

Andreote, F.D.; Mendes, R.; Dini-Andreote, F.; Rossetto, P.B.; Labate, C.A.; PizziraniKleiner, A.A.; van Elsas, J.D.; Azevedo, J.L.; Araújo, W.L. **Transgenic tobacco revealing altered bacterial diversity in the rhizosphere during early plant development**. *Antonie Van Leeuwenhoek*. May;93(4):415-24, 2008.

ASSIS, P. C. P. **Bactérias endofíticas isoladas de *Caryocar brasiliense*: atividade enzimática, antimicrobiana, leishmanicida e co-cultura com microrganismos patogênicos**. São Carlos, 2018. 85p. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia. Universidade Federal de São Carlos.

ARAÚJO, W. L.; MARCON, J.; MACCHERONI W. Jr.; VAN ELSAS, J.D.; VAN VUURDE, J.W.; AZEVEDO, J. L. **Diversity of endophytic bacterial populations and their interaction with *Xylella fastidiosa* in citrus plants.** *Appl. Environ. Microbiol.*,68: 4906-4914, 2002.

Araújo, W. L.; Quecine, M. C.; Lacava, P. T.; Aguilar-Vildoso, C. I.; Marcon, J.; Lima, A. O. S.; Kuklinsky-Sobral, J.; Pizzirani-Kleiner, A. A.; Azevedo, J. L. **Microorganismos Endofíticos: Aspectos Teóricos e Práticos de Isolamento e Caracterização.** 1. ed. Santarém: UFOPA, v. 1, p. 257, 2014.

BARY, A. **Morphologie und physiologie der pilze, flechten und Myxomyceten.** Leipzig: Engelamn, 1866. 316 p.

Brissow, E.R., da Silva, I.P., de Siqueira, K.A. et al. *Parasitol Res* (2017) 116: 1823.

CAMPOS, F.F.; ROSA, L.H.; COTA, B.B.; CALIGIORNE, R.B.; TELES RABELLO, A.L. *et al.* **Leishmanicidal Metabolites from *Cochliobolus* sp., an Endophytic Fungus Isolated from *Piptadenia adiantoides* (Fabaceae).** *PLOS Neglected Tropical Diseases* 3(1). 2008

CARVALHO, F. A.; JACOBSON, T. K. B.; COSTA, A. F.; SANTOS, A. A. B. S.; HAY, J. D. V. **Estrutura e distribuição espacial do Barbatimão (*Stryphnodendron polyphyllum*) em uma área de cerrado no sudeste de Goiás.** *Revista Tropica – Ciências agrárias e biológicas.* 3 (1), p. 14, 2009.

CASTRO, A. A. J. F.; MARTINS, F. R.; TAMASHIRO, J. Y.; SHEPHERD, G. J. **How rich is the flora of Brazilians Cerrados?** *Annals of the Missouri Botanical Garden.* 86 (2): 192-224. 1999.

CERIGIOLI, M. M. **Diversidade de bactérias endofíticas de raízes de milho (*Zea mays* L.) e potencial para promoção de crescimento.** São Carlos, 2005. 132p. Tese de Doutorado em Ciências Biológicas. Universidade Federal de São Carlos.

CHALLIS, G.L.; HOPWOOD, D.A. **Synergy and contingency as driving forces for the evolution of multiple secondary metabolite production by *Streptomyces* species.** In *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100:14555-14561,2003.

COTA, Betania Barros *et al.* **Leishmanicidal compounds of *Nectria pseudotrichia*, an endophytic fungus isolated from the plant *Caesalpinia echinata* (Brazilwood).** *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 113, n. 2, p. 102-110, Feb. 2018.

da Silva, I.P., Brissow, E., Kellner Filho, L.C. et al. *World J Microbiol Biotechnol* (2017) 33: 62.

De Paula, Felipe Nogueira Cruz. **Isolation of the endophytic and rhizospheric microbiome associated to *Polygala* spp.: Evaluation of the biotechnological potential and antimicrobial activity.** Tese de Doutorado em Biotecnologia. Universidade Federal de São Carlos. 2018

do Nascimento, A.M., Soares, M.G., da Silva Torchelsen, F.K.V. et al. **Antileishmanial activity of compounds produced by endophytic fungi derived from medicinal plant *Vernonia polyanthes* and their potential as source of bioactive substances.** *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (2015) 31: 1793.

FAVORETTO, N. B. **Produção de substâncias bioativas por microrganismos endofíticos isolados do Cerrado de São Carlos-SP.** Dissertação Universidade Federal de São Carlos. 39p. 2010.

FELFILI, J. M.; NOGUEIRA, P. E.; SILCA JR, M. C.; MARIMON, B. S.; DELITI, W. B. C. **Composição florística e fitossociologia do cerrado sentido restrito no município de Água Boa, MT.** *Acta Botânica Brasileira*. 16 (1): 102-112, 2002.

H. J. Motulsky, “**Advice: When to plot SD vs. SEM**”, GraphPad Statistics Guide. Accessed 27 Agosto 2019. <<http://www.graphpad.com/guides/prism/7/statistics/index.htm?statwhentoplotsdvssem.htm>>

LUNARDELLI, P. N. C, *et al.* “**Importance and implications of the production of phenolic secondary metabolites by endophytic fungi: a mini-review.**” *Mini reviews in medicinal chemistry* 16.4 (2016): 259-271.

MELO, J. O., M.; ENDO, T. H.; BERSANI-AMADO, L. E.; SVIDZINSKI, A. E.; BARONI, S.; MELLO, J. C. P.; BERSANI-AMADO, C. A. **Efeito da casca de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) em modelos de nocicepção animais.** *Ver. Bras. Ciênc, Farm.* vol. 43 no.3 São Paulo July/Sept. 2007.

(MOHAMMAD *et al.*, **In Vitro and In Vivo Effectiveness of carvacrol, thynol and linalool against *Leishmania infantum*.** *Molecules* 2019, 24(11), 2072. 2019.

Park, S. R. *et al.* **Discovery of cahuitamycins as biofilm inhibitors derived from a convergent biosynthetic pathway.** *Nat. Commun.* 7:10710 doi: 10.1038/ncomms10710 (2016).

RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F.; BRIDGEWATER, S. **The Brazilian cerrado vegetation and threats to its biodiversity.** *Annals of botany.* 80 (3): 223-230, 1997.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. **Fitofisionomia do bioma cerrado.** Pp. 89-166. n: S. M Sano & P. Almeida (eds). *Cerrado: ambiente e flora.* EMBRAPA- CPAC, Planaltina, 1998.

ROGERO, S. O.; LUGÃO, A. B.; IKEDA, T. I.; CRUZ, A. S. **Teste *in vitro* de citotoxicidade: Estudo comparativo entre duas metodologias.** *Materials Research*, Vol. 6, No. 3, 317-320, 2003. in

RUTLEDGE, P. J.; CHALLIS, G. L.. **Discovery of microbial natural products by activation of silent biosynthetic gene clusters.** *Nature Reviews Microbiology*, 13, n. 8, p.509-523, 29 jun. 2015. Springer Nature.

TORRES, F. L. **Bioprospecção e potencial biotecnológico de fungos endofíticos associados ao cerrado tropical.** Dissertação Universidade Federal de São Carlos. 60p. 2018.

TORTORA, G.J. *et al.* **Microbiologia.** 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 827p.

SOBRE A ORGANIZADORA

DANIELA REIS JOAQUIM DE FREITAS - Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (2000), com mestrado em Biologia Celular e Molecular (2002), doutorado em Ciências (2006) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Durante o mestrado e o doutorado trabalhou diretamente com biologia celular e molecular e bioquímica, na clonagem e expressão de genes do carrapato *Rhipicephalus (boophilus) microplus*. Também trabalhou com morte celular e estresse oxidativo no carrapato. Fez Pós-doutorado na área de Ciências Médicas - Farmacologia (2007) na Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre. Atualmente é professora e líder do Grupo de Estudos em Microbiologia e Parasitologia (NUEMP) no Departamento de Parasitologia e Microbiologia, e membro do Núcleo de Pesquisa em Prevenção e Controle de Infecções em Serviços de Saúde (NUPCISS) na Universidade Federal do Piauí. Também é docente permanente do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem - PPGEnf-UFPI. Tem experiência nas áreas de Biologia Celular e Molecular, Imunologia, Parasitologia, Microbiologia e Farmacologia Experimental e tem linhas de pesquisa em Controle de Infecções em Serviços de Saúde, Infecções comunitárias e Educação em Saúde.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Acinetobacter baumannii 38, 39, 40, 41, 42, 44, 45, 46, 47, 48

Amazônia 18

Amido 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 78, 137

Amilases 69, 70, 73, 74, 75, 76, 77, 78

B

Bactérias 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 22, 23, 24, 25, 38, 40, 45, 46, 49, 50, 51, 54, 55, 60, 63, 70, 81, 82, 89, 91, 92, 93, 94, 98, 100, 110, 119, 120, 121, 122, 130, 134, 135, 138, 140, 142, 144, 145

Bactérias Gram negativas 55, 63

Bactérias Gram positivas 55

Bactérias simbióticas 49

Barbatimão 134, 135, 136, 142, 145, 146

Billings 106, 107, 108, 109, 110

Biodigestão anaeróbica 116, 119, 121, 124, 125

Bioenergia 116, 127

Biofilme 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13

Biosurfactante 92, 95, 98, 99, 100, 105

C

Capsaicina 55, 56, 57, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 66

Caracterização morfocultural 49, 53

Cemitério 14, 15, 17, 18, 19

Cerrado 65, 67, 134, 135, 136, 137, 145, 146

Clostridium difficile 81

Coliformes 14, 16, 17, 18, 19, 22, 23, 24, 110, 115

Contaminação 7, 14, 17, 19, 24, 25, 92, 114, 117, 141

E

Enterobactérias 106, 108, 112, 114

Enzimas 11, 44, 69, 70, 73, 74, 75, 77, 78, 98, 120

Esporotricose 28, 29, 30, 31, 32, 34, 35

F

Farinha de mandioca 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27

Fungos 25, 33, 34, 50, 55, 69, 70, 75, 76, 77, 78, 81, 130, 134, 135, 142, 144, 146

H

Hidrólise de milho 75

I

Infecções associadas 38, 40, 41, 42

Ivermectina 130, 132

K

Klebsiela sp 81

M

Metano 116, 118, 119, 121, 122, 124, 125, 127, 128

P

Patógenos 1, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 30, 55, 63, 64, 129, 130, 132, 134, 135, 141, 142

Pediculoses 130

Petróleo 92, 93, 94, 95, 97, 98, 99, 100, 101

Pets não convencionais 130, 132

Piolhos 129, 130, 131, 132

Prevenção e controle 38, 40, 45, 147

Proteus sp 61, 81

R

Ramnolipídeos 92

Reservatório 7, 15, 25, 106, 107, 108

Resistência antimicrobiana 38, 40, 42, 56

S

Segurança alimentar 20, 25, 27

Sepsis 81, 90

Serratia sp 81

Sporothrix brasiliensis 28, 29, 31, 32, 33, 35, 36, 37

Stryphnodendron sp 134, 135, 140

T


Transmissão felina 28, 30

MICROBIOLOGIA:

Clínica, Ambiental e Alimentos

2

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

 **Atena**
Editora
Ano 2021

MICROBIOLOGIA:

Clínica, Ambiental e Alimentos

2

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

 **Atena**
Editora

Ano 2021