



MICROBIOLOGIA:

Avanços através dos séculos e constante atualizações tecnológicas

2

Benedito Rodrigues da Silva Neto
(ORGANIZADOR)

 **Atena**
Editora
Ano 2022



MICROBIOLOGIA:

Avanços através dos séculos e constante atualizações tecnológicas

2

Benedito Rodrigues da Silva Neto
(ORGANIZADOR)

 **Atena**
Editora
Ano 2022

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Bruno Oliveira

Camila Alves de Cremo

Daphynny Pamplona

Luiza Alves Batista

Natália Sandrini de Azevedo

Imagens da capa

iStock

Edição de arte

Luiza Alves Batista

2022 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2022 Os autores

Copyright da edição © 2022 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição-Não-Comercial-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 Biológicas e da Saúde**

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

Profª Drª Ana Beatriz Duarte Vieira – Universidade de Brasília

Profª Drª Ana Paula Peron – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

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

Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas

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



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



Microbiologia: avanços através dos séculos e constante atualizações tecnológicas 2

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Maiara Ferreira
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizador: Benedito Rodrigues da Silva Neto

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

M626 Microbiologia: avanços através dos séculos e constante atualizações tecnológicas 2 / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-258-0395-1

DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.951221108>

1. Microbiologia. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da (Organizador). 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



Atena
Editora
Ano 2022

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

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



DECLARAÇÃO DA EDITORA

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



APRESENTAÇÃO

Sabemos que a microbiologia é um vasto campo que inclui o estudo dos seres vivos microscópicos nos seus mais variados aspectos como morfologia, estrutura, fisiologia, reprodução, genética, taxonomia, interação com outros organismos e com o ambiente além de aplicações biotecnológicas. A microbiologia como ciência iniciou a cerca de 200 anos, entretanto os avanços na área molecular, como a descoberta do DNA, elevaram a um novo nível os estudos desse contexto, além de abrir novas frentes de pesquisa e estudo. Como ciência básica a microbiologia utiliza células microbianas para analisar os processos fundamentais da vida, e como ciência aplicada ela é praticamente a linha de frente de avanços importantes na medicina, agricultura e na indústria.

Deste modo, mais uma vez, temos o prazer de abordar o contexto da microbiologia, agora, dando continuidade ao tema correlacionando os avanços através dos séculos e consequentemente as constantes atualizações tecnológicas observadas nos últimos anos. Assim, apresentamos aqui o novo volume deste contexto denominado: “Microbiologia: Avanços através dos séculos e constante atualizações tecnológicas, volume 2” que compreende trabalhos e pesquisas desenvolvidas em diversos institutos contendo análises de processos biológicos embasados em células microbianas ou estudos científicos na fundamentação de atividades microbianas com capacidade de interferir nos processos de saúde/doença.

Mais uma vez a Atena Editora demonstra seu comprometimento com um dos alicerces do desenvolvimento científico em nosso país e a capacidade de enxergar importantes temas tais como os avanços no campo da microbiologia. Parabenizamos, desde já, cada autor, e convidamos o leitor para aprofundar seus conhecimentos neste campo tão promissor.

Desejo a todos uma ótima leitura!

Benedito Rodrigues da Silva Neto

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SENSORIAL Y MICROBIOLÓGICA DE UNA MAYONESA DE SOYA (*Glycine max*) CON TRES CONCENTRACIONES DE CULANTRO DE POZO (*Eryngium foetidum* L)


Jordan Javier García Mendoza
José Patricio Muñoz Murillo
Virginia Estefanía Zambrano Rodríguez
Omar Octavio Zambrano Chica

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.9512211081>

CAPÍTULO 2..... 12

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO GLICOLICO DE ROMÃ EM MICROORGANISMOS DO SÍTIO ORAL


Barbara Letícia Souza Moreira
Lucas de Paula Ramos

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.9512211082>

CAPÍTULO 3..... 19

BIOPOLÍMEROS CONSERVAÇÃO DE CÉLULAS DE RIZOBACTÉRIAS EM MEIOS DE CULTURA ALTERNATIVOS


Manuella Costa Sousa
Lillian França Borges Chagas
Kellen Ângela Oliveira de Sousa
Celso Afonso Lima
Gabriel Soares Nobrega
Ana Licia Leão Ferreira
Milena Barreira Lopes
Dalilla Moreira de Oliveira Moura
Adriana Santos Neves Ribeiro
Aloísio Freitas Chagas Junior



 <https://doi.org/10.22533/at.ed.9512211083>

CAPÍTULO 4..... 39

CONTROLE DE *Aedes aegypti* no DISTRITO FEDERAL

Rosilene Gomes Sousa
Lucas Santos de Sousa
Ana Cristina Rodrigues da Cruz
Lana Cristina Evangelista Ferreira de Sá
Michellen Maria Gomes Resende
Larissa Leite Barbosa
Joselita Brandão de Sant'Anna
Raphael da Silva Affonso
Eleuza Rodrigues Machado

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.9512211084>

CAPÍTULO 5	65
DETECÇÃO VIRAL AMBIENTAL EM ÁGUAS NO BRASIL: REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA	
Andrea Carvalho da Cruz	
Sylvia de Fátima dos Santos Guerra	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.9512211085	
CAPÍTULO 6	76
A PROTEÔMICA COMO FERRAMENTA PARA O DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO	
Benedito Rodrigues da Silva Neto	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.9512211086	
CAPÍTULO 7	84
DOENÇA DE CHAGAS E OS MICRORNAS	
Larissa Rodrigues de Sousa	
Alania Frank Mendonça	
Ana Carla Silva Jansen	
Francisca de Brito Souza Araújo	
Antonia Claudia da Conceição Palmeira	
Vanilza da Silva	
Eldevan da Silva Barbosa	
Ana Gabrielly de Melo Matos	
Ygor Victor Ferreira Pinheiro	
Juliana Maria Trindade Bezerra	
Andréa Pereira da Costa	
Jaqueline Diniz Pinho	
 https://doi.org/10.22533/at.ed.9512211087	
SOBRE O ORGANIZADOR	97
ÍNDICE REMISSIVO	98

CAPÍTULO 1

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SENSORIAL Y MICROBIOLÓGICA DE UNA MAYONESA DE SOYA (*Glycine max*) CON TRES CONCENTRACIONES DE CULANTRO DE POZO (*Eryngium foetidum* L)

Data de aceite: 01/08/2022

Data de submissão: 25/05/2022

Jordan Javier García Mendoza

Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ciencias Zootécnicas, Departamento de Procesos Agroindustriales
Portoviejo – Ecuador
<http://orcid.org/0000-0002-1204-580X>

José Patricio Muñoz Murillo

Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ciencias Zootécnicas, Departamento de Procesos Agroindustriales
Portoviejo – Ecuador
<http://orcid.org/0000-0002-9161-685X>

Virginia Estefanía Zambrano Rodríguez

Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ciencias Zootécnicas, Departamento de Procesos Agroindustriales
Portoviejo – Ecuador
<https://orcid.org/0000-0001-5855-8590>

Omar Octavio Zambrano Chica

Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ciencias Zootécnicas, Departamento de Procesos Agroindustriales
Portoviejo – Ecuador
<https://orcid.org/0000-0002-8001-3957>

en diversos productos agroindustriales. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de tres concentraciones de culantro de pozo (5%, 10% y 15%) sobre la calidad sensorial y microbiológica de una mayonesa de soya. Se evaluaron microorganismos patógenos (*Salmonella*; Coliformes totales; Recuento de mohos y levaduras; *Staphylococcus aureus*). Para el análisis de datos del perfil sensorial se utilizó ANOVA no paramétrico y prueba de Kruskal Wallis para la comparación de promedios, mediante un test hedónico con escala de 9 puntos, los catadores no entrenados evaluaron los atributos, olor; color; sabor y textura. La variable olor presentó un $p > 0,05\%$, mientras que los demás atributos si fueron estadísticamente significativos $p < 0,05\%$. El tratamiento de mayor aceptación fue el T3 (15% culantro de pozo), todos los tratamientos fueron microbiológicamente aceptables, el valor de grasa para el mejor tratamiento fue de 34,3%. La adición de culantro de pozo en la mayonesa de soya influyó sobre calidad sensorial del producto, todos los tratamientos cumplieron con los parámetros de calidad exigidos por la norma INEN 2295.

PALABRAS CLAVE: Análisis sensorial; culantro de pozo; *Eryngium foetidum* L; mayonesa de soya; grasa.

RESUMEN: La utilización de hierbas aromáticas como el culantro de pozo ha sido en su gran mayoría de aprovechamiento gastronómico, por lo tanto, existe la necesidad de involucrar esta materia prima rica en compuestos bioactivos

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE SENSORIAL E MICROBIOLÓGICA DE UMA MAIONESE DE SOJA (*Glycine max*) COM TRÊS CONCENTRAÇÕES DE CULANTRO DE POZO (*Eryngium foetidum* L)

RESUMO: O uso de ervas aromáticas como o coentro tem sido principalmente para uso gastronômico, portanto, há a necessidade de envolver essa matéria-prima rica em compostos bioativos em diversos produtos agroindustriais. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito de três concentrações de coentro (5%, 10% e 15%) na qualidade sensorial e microbiológica de uma maionese de soja. Microrganismos patogênicos (*Salmonella*; Coliformes Totais; Contagem de bolores e leveduras; *Staphylococcus aureus*) foram avaliados. ANOVA não paramétrica e teste de Kruskal Wallis foram utilizados para análise dos dados do perfil sensorial para comparação de médias, por meio de teste hedônico com escala de 9 pontos, os provadores não treinados avaliaram os atributos, olfato; cor; sabor e textura. A variável odor apresentou $p > 0,05\%$, enquanto os demais atributos foram estatisticamente significantes $p < 0,05\%$. O tratamento mais aceito foi o T3 (15% coentro do poço), todos os tratamentos foram microbiologicamente aceitáveis, o valor de gordura para o melhor tratamento foi de 34,3%. A adição de coentro na maionese de soja influenciou na qualidade sensorial do produto, todos os tratamentos atenderam os parâmetros de qualidade exigidos pela norma INEN 2295.

PALAVRAS-CHAVE: Análise sensorial; bem coentro; *Eryngium foetidum* L; maionese de soja; gordo.

EVALUATION OF THE SENSORY AND MICROBIOLOGICAL QUALITY OF A SOY MAYONNAISE (*Glycine max*) WITH THREE CONCENTRATIONS OF CORIANDER (*ERYNGIUM foetidum* L)

ABSTRACT: The use of aromatic herbs such as coriander has been mostly for gastronomic use, therefore, there is a need to involve this raw material rich in bioactive compounds in various agro-industrial products. The objective of this research was to evaluate the effect of three concentrations of coriander (5%, 10% and 15%) on the sensory and microbiological quality of a soy mayonnaise. Pathogenic microorganisms (*Salmonella*; Total Coliforms; Count of molds and yeasts; *Staphylococcus aureus*) were evaluated. Non-parametric ANOVA and Kruskal Wallis test were used for the sensory profile data analysis for the comparison of means, through a hedonic test with a 9-point scale, the untrained tasters evaluated the attributes, smell; colour; flavor and texture. The odor variable presented $p > 0.05\%$, while the other attributes were statistically significant $p < 0.05\%$. The most accepted treatment was T3 (15% coriander from well), all treatments were microbiologically acceptable, the fat value for the best treatment was 34.3%. The addition of coriander in soy mayonnaise influenced the sensory quality of the product, all treatments met the quality parameters required by the INEN 2295 standard.

KEYWORDS: Sensory analysis; well coriander; *Eryngium foetidum* L; soy mayonnaise; fat.

1 | INTRODUCCIÓN

La mayonesa es una emulsión de gotas de aceite en agua (O/W) y según la Organización Mundial de la Salud considera que uno de los principales ingredientes de este

producto es la grasa en un 78,5% (Mendoza et al., 2020), por esta razón, en los últimos años se ha incrementado la producción de mayonesas y aderezos con bajo contenido de grasa, debido a disminuir el contenido de aceite y con el fin de prevenir enfermedades crónicas asociadas a un alto consumo de grasa (Campos et al., 2021).

En este caso como alternativa saludable se encuentra la mayonesa de soya, la cual presenta entre sus características principales la sustitución total del huevo por proteína de soya, lo que le confiere al producto propiedades especiales que lo convierten en un aderezo dietético que no aporta colesterol y presenta buena digestibilidad (Campos et al., 2021), de acuerdo a la norma INEN 2295, (2010) a este producto se lo puede considerar como mayonesa baja en calorías, y según su normativa se le pueden añadir o no condimentos, especias y hierbas aromáticas.

Entre las recientes plantas de interés agroindustrial se encuentra el *Eryngium foetidum* L, miembro de la familia *Umbelliferae*, es conocido por varios nombres comunes, entre ellos; cilantro de hoja larga o espinoso, coulante, recaó, cilantro silvestre y culantro de pozo, la hierba es autóctona de América tropical, hoy en día se cultiva y extiende por todo el mundo, comprende más de 200 especies (Shavandi et al., 2012) es una hierba bienal que se usa ampliamente como planta medicinal en la mayoría de las regiones tropicales. Tiene una importancia creciente como planta de especia cultivada en India, Vietnam, Australia y otros lugares (Paul et al., 2011).

Las hojas de *E. foetidum* a menudo se sustituyen por hojas de cilantro debido a su olor similar, se emplea en el tratamiento de la diabetes, el reumatismo, varios trastornos antiinflamatorios, respiratorios (resfriado, asma, tos, sinusitis) y estomacales (Thomas et al., 2017), también se utilizan ampliamente para adornar, marinar, aromatizar y sazonar los alimentos (Singh et al., 2014), el uso de esta planta en el Ecuador es de forma tradicional con un enfoque en la aplicación culinaria existen distintas maneras de conservarla sin que pierda sus propiedades condimentarias, puede ser usada en platos fuertes y postres a base de su infusión (Rosero et al., 2020; Aswathy & Oommen, 2014).

En su composición presentan una excelente fuente de vitaminas A, B1, B2, y C (Lingaraju et al., 2016), por otra parte, se han identificado varios constituyentes químicos de *E. foetidum* incluyendo aceites esenciales como (E)-2-dodecenal (eryngial), triterpenoides (estigmasterol), terpenos (limoneno) y saponinas (Rojas et al., 2014). Otros estudios han documentado presencia de compuestos bioactivos (polifenoles, taninos, antocianinas, flavonoides, carotenoides y ácido ascórbico) (Singh et al., 2012). En los últimos diez años, numerosos artículos de investigación científica han citado usos tradicionales de *E. foetidum*, especialmente en América Latina y Asia. Veintiún estudios mencionaron el uso de la especie en etnomedicina en forma de té para tratar la inflamación, y nueve lo mencionaron con la aplicación en gastronomía para preparar comidas típicas (Rodrigues et al., 2022).

En Ecuador se presentan cultivos de *E. foetidum* en la zona litoral y sobre todo en épocas de lluvias abunda la población de esta planta, a pesar de aquello, las personas aún

desconocen de sus propiedades, por lo que es considerada como una maleza y proceden a eliminarla (Requelme, 2019), razón por la cual, es importante generar estudios que permitan aprovechar y recuperar la seguridad alimentaria de este cultivo. Por otra parte, se ha demostrado que la mayonesa de soya presenta menos calorías y grasas, ideales para una dieta balanceada (Muñoz, 2015), así como un gran interés por su consumo al ser un alimento nutritivo y saludable (Villegas, 2016), sin embargo, el producto se encuentra en pleno auge, por lo tanto, existe la necesidad de involucrar en su formulación ingredientes naturales que permitan impulsar aún más sus propiedades y beneficios para el consumidor. Por tal razón, en esta investigación se evaluó el efecto de tres concentraciones de culantro de pozo sobre las características sensoriales y microbiológicas de una mayonesa de soya.

2 | METODOLOGÍA

2.1 Lugar de la experimentación

La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Procesos Agroindustriales en el área de Lácteos de la Facultad de Ciencias Zootécnicas, Universidad Técnica de Manabí. Geográficamente se encuentra ubicada en el cantón Chone km 2 ½ vía Boyacá, sitio Ánima, a 00°41'17" de latitud Sur y 80°07'25" de longitud Oeste.

Para la elaboración de la mayonesa de soya, se trabajó con leche de soya, aceite de soya, ajo, pimienta molida, mostaza, cebolla y sal, los cuales fueron adquiridos en el supermercado local (gran Aki), el culantro de pozo se obtuvo de huertos familiares de la comunidad cañales del cantón Chone provincia de Manabí, y el ácido ascórbico fue suministrado por el Laboratorio de la Facultad.

2.2 Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con arreglo factorial, el factor en estudio, correspondió a las concentraciones de culantro de pozo, al 5%, 10%, y 15%. Se formularon tres tratamientos con sus respectivas replicas, obteniendo un total de 9 unidades experimentales. En la tabla 1, se detallan los tratamientos en estudio.

Las concentraciones del culantro de pozo (CP) se obtuvieron en relación a la base 100% de la mayonesa de soya (MS), es decir; T1 (100% MS + 5% CP), T2 (100% MS + 10% CP) y T3 (100% MS + 15% CP).

Tratamientos	Factor A:	
	Concentraciones de culantro de pozo	Replicas
T1	5%	3
T2	10%	3
T3	15%	3

Tabla 1. Formulación de los tratamientos en estudio del diseño experimental.

2.3 Procedimiento experimental

2.3.1 Material vegetal deshidratado (*Culantro de pozo*)

Se receiptó hojas de culantro de pozo, luego se realizó la selección correspondiente de aquellas en buen estado, descartando aquellas con presencia de deterioro, posteriormente se desinfectaron con una solución de 2ppm de hipoclorito de sodio en dos litros de agua, seguido fueron acondicionadas y llevadas a secado artificial a una temperatura de 45°C por 5 horas el proceso se llevó a cabo en un deshidratador marca BYRD con capacidad de 12 bandejas de acero inoxidable, continuamente se procedió a moler las hojas deshidratadas en un molino de acero inoxidable (marca corona #50), el material vegetal molido con el fin de obtener un menor tamaño de partícula fue tamizado en un tamiz #35, posteriormente se pesó y empacó en fundas Ziploc selladas al vacío, para luego ser almacenadas.

2.3.2 Mayonesa de soya con adición de culantro de pozo

Para el procedimiento de elaboración de mayonesa de soya, se utilizó una Licuadora (Oster Xpert Series) luego en el recipiente de vidrio se añadió la leche de soya junto con el ajo, pimienta molida, mostaza, cebolla, y sal; se licuó esta mezcla durante 5 minutos, de forma continua se añadió el culantro de pozo (5%, 10% y 15% de acuerdo a cada tratamiento) y se continuó licuando por 2 minutos más, seguido se agregó lentamente el aceite de soya, posteriormente se incorporó el ácido ascórbico, formada la mezcla se siguió homogenizando por 3 minutos más, terminada la homogenización el producto fue envasado en envases de vidrio previamente esterilizados para su posterior almacenamiento.

2.4 Análisis microbiológicos

A todos los tratamientos en estudio se le evaluó su calidad microbiológica por medio de los siguientes análisis: salmonella (NTE INEN 1529-15), coliformes (NTE INEN 1529-6), recuento de mohos y levaduras (NTE INEN 1529-10) y *Staphylococcus aureus* (NTE INEN 1529-14).

2.5 Análisis sensorial

Para la evaluación de perfil sensorial se contó con la participación de 40 panelistas no entrenados, a los cuales se les facilitó las muestras codificadas en orden aleatorio más un vaso con agua purificada, seguido se les entregó un test hedónico con escala de calificación de 9 puntos siendo 1 la más baja y 9 la más alta (1 = me disgusta muchísimo; 2 = me disgusta mucho; 3 = me disgusta moderadamente; 4 = me disgusta poco; 5 = ni me gusta ni me disgusta; 6 = me gusta poco; 7 = me gusta moderadamente; 8 = me gusta mucho; 9 = me gusta muchísimo), posteriormente los panelistas evaluaron en términos de calidad los atributos color, olor, sabor y textura.

Al mejor tratamiento escogido por los catadores no entrenados, se le realizó análisis de grasa según lo establecido en la norma INEN 2295:2010.

2.6 Análisis estadístico

El procesamiento de los datos se llevó a cabo en el programa estadístico InfoStat versión libre. Se aplicó en los valores sensoriales análisis de varianza no paramétrico y prueba de Kruskal Wallis al 0,05% de significancia y 95% de confianza.

3 | RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Calidad microbiológica de la mayonesa de soya con culantro de pozo

En la tabla 2 se detallan los resultados microbiológicos de los tratamientos en estudio, de tal forma, se demostró ausencia de microorganismos en *salmonella*, *coliformes totales* y *Staphylococcus aureus*, por otra parte, mohos y levaduras presentaron un valor de $2,0 \times 10^1$.

Los resultados de *Salmonella* se encuentran relacionados a los expuestos por Ruiz (2014) de ausencia de este patógeno en mayonesas preparadas en pollerías del centro histórico de Cuenca.

Los valores de *Staphylococcus* se encuentran diferentes a los presentados por Tinoco & Ochoa (2017) los autores determinaron, que un total del 19,4% de muestras de mayonesa que se expenden en locales de alimentos del terminal terrestre de Cuenca, se encontraban contaminadas por *S. aureus*.

En esta investigación los microorganismos evaluados en cada tratamiento se encontraron dentro del límite permisible por la norma INEN 2295 (2010), siendo un producto con calidad microbiológica apto para el consumidor.

Es importante mencionar que el control microbiológico en mayonesas de todo tipo es importante, ya que al ser un producto de consumo masivo y presentar varias formas de elaboración y almacenamiento, puede brindar las condiciones adecuadas para la proliferación de microorganismo patógenos, aquello está relacionado a lo expresado por Gómez & Alvarado (2014) quienes indican que este tipo de producto y en especial los que se procesan con yema de huevo es uno de los alimentos (caseros) más implicados en intoxicaciones alimentarias por ser susceptible a sufrir contaminación y posterior desarrollo microbiano.

Microorganismos patógenos	Tratamientos		
	T1	T2	T3
Salmonella /25 g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Coliformes totales NMP/g	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Recuento de mohos y levaduras UFC/g ⁻¹	2,0 x 10 ¹	2,0 x 10 ¹	2,0 x 10 ¹
Staphylococcus aureus UFC/g ⁻¹	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Tabla 2. Resultados de calidad microbiológica de la mayonesa de soya con culantro de pozo.

3.2 Análisis sensorial de la mayonesa de soya con culantro de pozo

En la tabla 3 se presentaron los resultados de análisis de varianza no paramétrico, el cual demostró que no existe diferencia significativa para la variable Olor, sin embargo, los demás atributos si fueron estadísticamente significativos entre los tratamientos. A los parámetros del perfil sensorial que presentaron diferencia significativa se les aplicó prueba de comparación de promedios según Kruskal Wallis, los cuales se detallan a continuación.

Atributos Sensoriales	Tratamientos			Sig. Kruskal Wallis.	E.E
	T1	T2	T3		
Olor	7,03 ^a	7,20 ^a	7,73 ^a	0,2100 ^{ns}	0,29
Color	7,07 ^a	7,37 ^{ab}	8,00 ^b	0,0396*	0,26
Sabor	7,03 ^a	7,30 ^{ab}	8,00 ^b	0,0330*	0,26
Textura	7,13 ^a	7,53 ^a	8,03 ^b	0,0558*	0,26

Tabla 3. Resultados de análisis de varianza no paramétrico y comparación de promedios según la prueba de Kruskal Wallis para los atributos de perfil sensorial. *Medias con una letra en común no son significativamente diferentes (p<0,05)*. * = significancia estadística. **ns** = no significativo.

3.2.1 Color

El análisis de varianza no paramétrico demostró diferencia significativa para la variable color, por lo tanto, se realizó la comparación de promedios según la prueba de Kruskal Wallis, la cual ordenó a los tratamientos en dos rangos (a) y (b), de esta forma se logró determinar que el tratamiento T2 no fue estadísticamente significativo con el T1 y T3, mientras que el T3 si presentó diferencia estadística frente al T1, de tal forma se identificó que el tratamiento con mayor aceptación fue el T3 con una media de 8,00 y categoría según escala hedónica de me gusta mucho, estos valores se encuentran superior a los reportados por la literatura de Reyes & Sánchez (2021) con un promedio de aceptación de 3,43 (no me gusta – ni me disgusta) para una mayonesa con aceite de *Sacha inchi*, al contrario, estudios como el de Gaffrey (2014) manifestaron un grado de aceptación levemente superior (77%) en una mayonesa con quitosano.

3.2.2 Sabor

De acuerdo con los resultados del análisis de varianza no paramétrico se logró determinar que la variable sabor presentó diferencia significativa, por lo tanto, se procedió a realizar la comparación de promedios mediante la prueba de contraste Kruskal Wallis la cual ordenó a los tratamientos en dos rangos (a) y (b), de este modo se estableció que el tratamiento T1 fue significativamente diferente frente al T3 mientras que el T2 no presentó diferencia significativa frente a los demás tratamientos, estos resultados permitieron establecer que el tratamiento con mejor aceptación por parte de los catadores no entrenados fue el T3 con una media de 8 y categoría de me gusta mucho, los valores de este estudio se encuentran similares a los detallados en la literatura de Ayala et al. (2017) quienes determinaron buena aceptabilidad en una mayonesa de aguacate. Otros estudios como el de Maldonado (2015) demostraron mayor preferencia sobre este atributo en una mayonesa con mucílago de chíya y 0,5 g·kg⁻¹ de goma guar frente a productos comerciales. En esta investigación fue relevante la aceptación por parte de los catadores no entrenados por la mayonesa de soya con mayor concentración de culantro de pozo (15%).

3.2.3 Textura

El análisis de varianza no paramétrico estableció con un $p < 0,05$ diferencia estadística significativa en el atributo textura, por lo tanto, se realizó la comparación de promedios según la prueba de Kruskal Wallis, la cual ordenó a los tratamientos en dos rangos (a) y (b), de esta forma se determinó que el tratamiento T1 frente al T2 no presentaron diferencia significativa, pero el T3 si fue estadísticamente significativo frente a los demás tratamientos, de acuerdo a los resultados, el T3 se manifestó como el mejor tratamiento escogido por los catadores no entrenados con una media de 8,03 y categoría de aceptación según escala hedónica de me gusta mucho. Los valores de esta investigación se encuentran superior a los manifestados por Reyes & Sánchez (2021) para una mayonesa con aceite de oliva cuyo promedio de preferencia fue de 2,8 (no me gusta), por otra parte, investigaciones como la de Muñoz (2015) determinaron una aceptación sensorial de 9,14 puntos en una mayonesa de soya con 0,7% de goma xantana.

3.3 Análisis bromatológico

En la tabla 4 se detalla el resultado de grasa evaluado al mejor tratamiento escogido por los jueces no entrenados, siendo su valor de 34,3% se encuentra dentro de los límites permisibles por la norma INEN 2295, (2010) la cual establece un máximo de <65% de grasa de extracto etéreo %m/m. El valor detallado en este estudio, se encuentra relacionado al expresado por Mezones & Vásquez (2011) dando un porcentaje de grasa de 37,08% en una salsa tipo mayonesa con característica especial de ser picante al haber utilizado ají escabeche (*Capsium baccatum*).

Parámetro	Resultado
Grasa	34,3%

Tabla 4. Resultado de grasa para el mejor tratamiento T3.

4 | CONCLUSIONES

Se determinó que el tratamiento en estudio de mayor aceptación y con una apreciación de me gusta mucho fue el T3 (15% CP), lo cual indicó que a mayor concentración de culantro de pozo mejor será la aprobación de la mayonesa de soya por parte de los catadores no entrenados.

Todos los tratamientos fueron microbiológicamente aceptables, por otra parte, el contenido de grasa en el mejor tratamiento cumplió con lo exigido por la norma INEN 2295.

El culantro de pozo puede ser considerado como alternativa natural para potenciar la calidad sensorial y microbiológica de la mayonesa de soya.

REFERENCIAS

Aswathy, P., & Oommen, P. (2014). Carminative, phytochemical and antioxidant potentialities of the leaf extracts of *Eryngium foetidum* L (Apiaceae). *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(6), 2269-2280.

Ayala, R., Cocotle, Y., Cortés, J., & Guzmán, R. (2017). Aderezo de mayonesa de aguacate "HASS" procesado con ultrasonido: calidad química, microbiológica y sensorial. Jalisco, México: Memorias del V Congreso Latinoamericano del Aguacate.

Campos Muiño, A., Panadés Ambrosio, G., Carballo Pérez, I., & Silvia Falco, A. (2021). Desarrollo de un aderezo de soya tipo mayonesa. *Ciencia y Tecnología de los Alimentos*, 31(2), 1-6.

Gaffrey, M. (2014). Mayonesa con quitosano. (Trabajo Final de Grado, Universidad Fasta) Repositorio digital ufasta.

Gómez, K., & Alvarado, P. (2014). Efecto inhibitorio del filtrado de un cultivo de *Lactobacillus* sp en la supervivencia de Salmonella enteritidis, Salmonella sp. y *Staphylococcus aureus* en mayonesa casera. *Pueblo Continente*, 25(1), 45-52.

INEN 2295. (2010). Mayonesa. Requisitos. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2295.pdf>

Lingaraju, D., Sudarshana, M., Mahendra, C., & Poornachandra, K. (2016). Phytochemical screening and antimicrobial activity of leaf extracts of *Eryngium foetidum* L. (Apiaceae). *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 6(2), 1-6.

Maldonado, L. (2015). Evaluación del uso del mucilago de chíá y la goma guar en la elaboración de mayonesa. (Tesis de Grado, Universidad Técnica de Ambato) Repositorio digital uta.

- Mendoza Combat, J. C., Mendoza, M. P., Ávila García, B., & Ariza Díaz, M. L. (2020). Formulación de mayonesa baja en grasa usando almidón de maíz modificado. *Memorias Biotecnología, Bioinformática e Ingeniería de Alimentos-Expotech*, 1-8.
- Mezones Chumacero, L. M., & Vásquez Torres, J. O. (2011). Formulación y elaboración de mayonesa picante utilizando ají escabeche (*Capsium baccatum*). (Tesis de Grado, Universidad Nacional del Santa) Repositorio institucional digital uns.
- Muñoz Lema, A. (2015). Estudio del efecto estabilizante de goma xantana en la elaboración de la mayonesa de Glycine max (Soya). (Trabajo de Titulación, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo) Repositorio digital esPOCH.
- Paul, J., Seaforth, C., & Tikasingh, T. (2011). *Eryngium foetidum* L.: A review. *Fitoterapia*, 82(3), 302-308.
- Requelme, G. (2019). Efecto del deshidratado molido de *Eryngium foetidum* en los parámetros bioquímicos de la sangre de pollos de engorde. (Trabajo de Titulación, Universidad Técnica de Machala) Repositorio digital utmach.
- Reyes Parrales, S., & Sánchez Miranda, J. (2021). "Análisis de las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de la aplicación del aceite de girasol, oliva y sachá Inchi en la elaboración de mayonesa, aderezo César y alioli. (Tesis de Grado, Universidad de Guayaquil) Repositorio digital ug.
- Rodrigues, T., Silva, M., Gurgel, E., Oliveira, M., & Lucas, F. (2022). *Eryngium foetidum* L. (Apiaceae): A literature review of traditional uses, chemical composition, and pharmacological activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-15.
- Rojas, P., Graziöse, R., Vesely, B., Poulev, A., Mbeunkui, F., Grace, M., & Raskin, I. (2014). Leishmanicidal activity of a daucane sesquiterpene isolated from *Eryngium foetidum*. *Pharmaceutical Biology*, 52(3), 397-401.
- Rosero Gómez, C., Lorena Zambrano, M., García, K., & Viracocha, L. (2020). Nomenclatura y usos del culantro de monte (*Eryngium foetidum* L.) en la comunidad San Antonio de Padua, cantón Quinsaloma, Provincia de Los Ríos – Ecuador. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 19(3), 334-343.
- Ruiz, J. (2014). Determinación de Salmonella spp en mayonesa preparada en pollerías ubicadas en el centro histórico de Cuenca. (Tesis de Maestría, Universidad del Azuay) Repositorio digital uazuay.
- Shavandi, M. A., Haddadian, Z., & Ismail, M. H. (2012). *Eryngium foetidum* L. *Coriandrum sativum* and *Persicaria odorata* L.: A Review. *Journal of Asian Scientific Research*, 2(8), 410-426.
- Singh, B., Ramakrishna, Y., & Ngachan, S. (2014). Spiny coriander (*Eryngium foetidum* L.): a commonly used, neglected spicing-culinary herb of Mizoram, India. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 61, 1085–1090.
- Singh, S., Singh, D., Banu, S., & Salim, K. (2012). Determination of Bioactives and Antioxidant Activity in *Eryngium foetidum* L.: A Traditional Culinary and Medicinal Herb. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: *Biological Sciences*, 83, 453–460.
- Thomas, P., Essien, E., Ntuk, S., & Choudhary, M. (2017). *Eryngium foetidum* L. Essential Oils: Chemical composition and antioxidant capacity. *Medicines*, 4(2), 2-7.

Tinoco Alvear, M. L., & Ochoa Coronel, E. M. (2017). Determinación de *Staphylococcus aureus* en las mayonesas de los locales de expendio de alimentos en el Terminal Terrestre de Cuenca. (Tesis de Maestría, Universidad del Azuay) Repositorio digital uazuay.

Villegas Aparicio, K. (2016). Asociación de pequeños comerciantes de productos derivados de soya en la ciudad de Esmeraldas. (Tesis de Grado, Pontificia Universidad Católica del Ecuador) Repositorio digital pucese.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO GLICOLICO DE ROMÃ EM MICROORGANISMOS DO SÍTIO ORAL

Data de aceite: 01/08/2022

Data de submissão: 26/05/2022

Barbara Letícia Souza Moreira

Instituto Taubaté de Ensino Superior
Taubaté - SP

<http://lattes.cnpq.br/2853653245768884>

Lucas de Paula Ramos

Instituto Taubaté de Ensino Superior
Taubaté - SP

<http://lattes.cnpq.br/0723165440915483>

RESUMO: As infecções da cavidade oral possuem um amplo perfil etiológico microbiano que varia de acordo com cada microambiente da boca. Tais infecções muitas vezes requerem tratamento antimicrobiano, o que pode levar ao desenvolvimento de resistência. Há, portanto, a necessidade de encontrar novas estratégias terapêuticas baseadas em compostos naturais derivados de plantas. **Objetivo:** deste estudo foi determinar o efeito antimicrobiano do extrato de *Punica granatum* (romã), contra *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*. **Metodologia:** O extrato glicólico da romã foi adquirido pela Empresa Vidraria Real com os devidos laudos e especificações. A atividade antimicrobiana do extrato foi realizada contra as cepas de referência: *Candida albicans* ATCC18804, *Staphylococcus aureus* ATCC6538 e *Enterococcus faecalis* ATCC4083 através do teste de Microdiluição em Caldo, protocolo M7-A6 para bactéria e protocolo M27-A2

para leveduras. **Resultados:** O extrato na concentração de 60 mg/ml foi capaz de promover Concentração Inibitória Mínima e Concentração Microbicida Mínima contra *Candida albicans* e conseguiu obter Concentração Inibitória Mínima para *Staphylococcus aureus*, porém não promoveu nenhum efeito antimicrobiano contra *Enterococcus faecalis*. **Conclusão:** Os resultados obtidos neste estudo mostram a importância das indicações terapêuticas das plantas medicinais como método alternativo e de baixo custo já que a aplicação do extrato glicólico de romã foi capaz de promover atividade antimicrobiana sobre a cepa de *Candida albicans* obtendo concentração inibitória mínima e concentração microbicida mínima sobre o fungo o que valida a utilidade do extrato de *Punica granatum* como um potente agente antimicrobiano.

PALAVRAS-CHAVE: Resistência bacteriana, fitoterápicos, extrato de *Punica granatum*.

EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF POMEGRANATE GLYCOL EXTRACT ON ORAL MICROORGANISMS

ABSTRACT: Infections of the oral cavity have a broad microbial etiologic profile that varies with each microenvironment of the mouth. Such infections often require antimicrobial treatment, which can lead to the development of resistance. There is, therefore, a need to find new therapeutic strategies based on natural plant-derived compounds. **Objective:** This study was to determine the antimicrobial effect of *Punica granatum* (pomegranate) extract against *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. **Methodology:** The

pomegranate glycolic extract was purchased from Vidraria Real Company with the proper reports and specifications. The antimicrobial activity of the extract was performed against the reference strains: *Candida albicans* ATCC18804, *Staphylococcus aureus* ATCC6538 and *Enterococcus faecalis* ATCC4083 through the Microdilution broth protocols M7A6 for bacteria and M27-A2 for yeast. **Results:** The extract at the concentration of 60 mg/ml was able to promote Minimal Inhibitory Concentration and Minimal Microbicidal Concentration against *Candida albicans* and was able to obtain Minimal Inhibitory Concentration for *Staphylococcus aureus*, but did not promote any antimicrobial effect against *Enterococcus faecalis*. **Conclusion:** The results obtained in this study show the importance of the therapeutic indications of medicinal plants as an alternative and low cost method since the application of the glycolic extract of pomegranate was able to promote antimicrobial activity on the *Candida albicans* strain obtaining minimum inhibitory concentration and minimum microbicidal concentration on the fungus which validates the usefulness of the extract of *Punica granatum* as a potent antimicrobial agente.

KEYWORDS: Bacterial resistance, herbal medicines, *Punica granatum* extract.

INTRODUÇÃO

As infecções da cavidade oral apresentam amplo perfil etiológico microbiano, que varia de acordo com o ecossistema específico de cada parte da boca, causando uma enorme gama de doenças com diferentes frequências e gravidade. Dentre essas infecções, as odontogênicas sozinhas respondem por 7% a 10% do total de antibioticoterapia utilizada nas populações, sendo que alguns casos requerem uma combinação de tratamentos e medicamentos para resolução. Além disso, vários estudos têm demonstrado que as infecções orais podem ser um fator de risco para o aparecimento, desenvolvimento e progressão de doenças sistêmicas. Tudo isso, somado ao problema da crescente resistência bacteriana aos antimicrobianos, cria uma necessidade premente de encontrar novas estratégias antimicrobianas (ROJAS et al.,2021).

Dentro da etiologia microbiana das infecções da cavidade oral, a flora patogênica é composta principalmente por espécies de *Streptococcus* e *Staphylococcus*, além de uma série de microrganismos oportunistas. O *Streptococcus mutans* tem sido frequentemente associado ao aparecimento e progressão da cárie dentária – doença de grande repercussão na cavidade oral – bem como a outras infecções de origem odontogênica. *Staphylococcus aureus* está presente em abscessos de origem odontogênica, sendo o segundo microrganismo mais importante após o grupo *viridans* de *Streptococcus*, e aparecendo recorrentemente em diferentes lesões infecciosas da cavidade oral. A *Escherichia coli*, que é um microrganismo muito importante da família Enterobacteriaceae, também é frequentemente encontrada em infecções da cavidade oral e tem grande capacidade de desenvolver resistência a antimicrobianos. *Enterococcus faecalis* está associado a infecções do canal radicular, além de ser reconhecido por sua ampla resistência a diversos agentes antimicrobianos (ROJAS et al.,2021; SANTOS,2004).

“Por fim, a *Candida albicans* é um fungo oportunista e, devido ao seu longo tempo de persistência nos tecidos que infecta, está intimamente associada à estomatite relacionada à dentadura e a diferentes tipos de candidíase de difícil tratamento” (SANTOS,2004).

A resistência aos antibióticos se desenvolve de forma natural como uma consequência da habilidade da população bacteriana de se adaptar. O uso indiscriminado de antibióticos aumenta a pressão seletiva e, também, a oportunidade de bactérias serem exposta aos mesmos. Aquela oportunidade facilita a aquisição de mecanismos de resistência. O uso intenso de antibióticos na medicina, na produção de alimentos para animais e na agricultura tem causado um aumento na resistência àquelas drogas em todo mundo (TEIXEIRA; FIGUEIREDO; FRANÇA,2019).

A resistência antimicrobiana tornou-se o principal problema de saúde pública no mundo, afetando todos os países, desenvolvidos ou não. Ela é uma inevitável consequência do uso indiscriminado de antibióticos em humanos e animais. Na Europa e na América do Norte, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Streptococcus pneumoniae* não susceptível à penicilina (PNSSP), enterococos resistente à vancomicina (VRE) e *Enterobacteriaceae* produtoras de beta-lactamase de espectro ampliado (ESBL) têm emergido e se espalhado nos hospitais e nas comunidades (SANTOS,2004; TEIXEIRA; FIGUEIREDO; FRANÇA,2019).

O comportamento particular de muitas espécies microbianas envolvidas em infecções da cavidade oral, e a dificuldade de tratar algumas delas, tem levado a um crescente interesse na busca e desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos naturais à base de plantas. Em todo o mundo, muitas espécies vegetais diferentes têm sido utilizadas como fontes de medicamentos naturais para o tratamento de doenças. Estudos *in vitro* descobriram que alguns extratos brutos de espécies vegetais são potencialmente úteis no controle da multirresistência (PEREIRA et al.,2006).

A utilização de plantas medicinais vem cada vez mais sendo estimulada pela OMS, por ser acessível economicamente a grande parte da população. Em torno de 80% da população dos países em desenvolvimento utiliza deste tipo de medicamentos (PEREIRA et al.,2006).

Punica granatum (romã) é uma planta da família Punicaceae, conhecida popularmente como romanzeira, romeira e granada. Sua origem é proveniente da Ásia, mas é amplamente cultivada há muitas gerações na Europa. A *P. granatum* é utilizada em vários sistemas médicos tradicionais e nos últimos 15 anos houve aumento considerável em estudar essa espécie (SAAD; LÉDA; SÁ; SEIXLACK,2016).

Os constituintes da romã incluem taninos altamente hidrolisáveis (punicalinas e punicalaginas), ácido elágico (um componente de elagitaninos) e ácido gálico (um componente de galotaninos) (EL-BAHY; ABDELAZIZ; KHALAFALLA,2019).

Os compostos flavonóides da romã têm fortes efeitos antioxidantes e ajudam a regular o sistema imunológico. Eles também podem ser eficazes no tratamento de câncer, doenças

cardiovasculares crônicas, inflamações e periodontite crônica. Devido à sua elagitanina e punicalagina, a romã tem efeitos antibacterianos e suas propriedades antivirais contra o vírus do herpes foram comprovadas. Em geral, a romã é altamente eficaz para acelerar o processo de cicatrização de feridas, principalmente estomatites aftosas, devido às suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas, antimicrobianas, antivirais e antifúngicas (TAVANGAR; ASLANI; NIKBAKHT,2019).

O extrato da casca da romã rico em polifenóis tem apresentado um forte efeito antisséptico e também atividade antibacteriana contra gram-negativas e gram-positivas. Muitos estudos demonstram a eficácia biológica da *Punica granatum*, tal como seu potencial para inibição do crescimento de bactérias gram-positivas, especialmente do *Staphylococcus aureus* (TELES; COSTA,2014).

Diante da problemática de resistência antimicrobiana global associado aos poucos estudos que avaliam a atividade antimicrobiana do extrato de romã o objetivo do presente trabalho foi determinar a atividade antimicrobiana do extrato de *Punica granatum* contra *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*.

METODOLOGIA

Foi adquirido o extrato glicólico de *Punica granatum* (Romã) da empresa Vidraria Real (São Paulo, SP) na concentração de 240 mg/ml, com os devidos laudos e especificações.

Foram utilizadas cepas de referências *American Type Culture Collection* (ATCC) de *Candida albicans* ATCC18804, *Staphylococcus aureus* ATCC6538 e *Enterococcus faecalis* ATCC4083.

A Tabela 1 mostra a avaliação da concentração do extrato:

Microorganismos	Concentração do Extrato de Romã (mg/ml)										
<i>Candida albicans</i>	60	30	15	7,5	3,75	1,875	0,937	0,468	0,234	0,117	
<i>Staphylococcus aureus</i>	60	30	15	7,5	3,75	1,875	0,937	0,468	0,234	0,117	
<i>Enterococcus faecalis</i>	60	30	15	7,5	3,75	1,875	0,937	0,468	0,234	0,117	

Tabela 1. Avaliação da concentração do extrato

Fonte: Autores.

Para a determinação da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) para os micro-organismos aeróbios foi utilizado o método de microdiluição em caldo, segundo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), normas M7-A6 (NCCLS M7-A6,2003) e M27-A2 (NCCLS M27-A2,2002). Para isso as bactérias foram reativadas, do congelamento a -80°C, em ágar Brain Hearth Infusion (Himedia, Mumbai, Índia) com incubação de 24h/37°C. Após reativação das cepas foi realizado a preparação do inóculo, onde colônias isoladas foram transferidas para um tubo contendo solução fisiológica estéril (NaCl 0,9%),

posteriormente foi realizado o ajuste da turbidez desta solução, padronizando a solução em espectrofotômetro, na concentração de 10^6 UFC/mL.

O teste foi realizado em microplacas, onde foram adicionados 100 μ L do caldo Mueller Hinton (Himedia, Mumbai, Índia) em 10 poços por grupo teste, sendo que todos os grupos foram avaliados em duplicata. Após adição do meio de cultura, foi realizado a diluição dos extratos, para isso foram adicionados 100 μ L dos extratos apenas no primeiro poço da microplaca (TPP, Suíça) de cada grupo teste, de onde se foi iniciado uma série de 10 diluições.

Após o preparo das diluições do extrato, foram adicionados os inóculos padronizados, inserindo 100 μ L da suspensão de micro-organismo em cada poço da microplaca de 96 poços. A placa foi incubada em estufa bacteriológica por 24h/37°C, posteriormente foi realizada a determinação da CIM (Concentração Inibitória Mínima), sendo o poço com a menor concentração do extrato que não apresentou turvação.

Para que a concentração microbicida mínima (CMM) dos extratos fosse determinada, foram semeados 10 μ L da CIM, bem como 10 μ L de uma concentração acima e de uma concentração abaixo dela em ágar BHI. Após 48 h de incubação, a CMM foi determinada na menor concentração semeada que não apresentou crescimento de colônias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Vários agentes antimicrobianos vêm sendo estudados, com o objetivo de inibir ou reduzir a formação do biofilme dental, crescimento bacteriano, e conseqüentemente a adesão de microrganismos à superfície dentária (PEREIRA et al.,2006).

(PEREIRA et al.,2006) afirmaram que a *Punica granatum* possui ação antimicrobiana específica sobre bactérias presentes no biofilme supragengival, produzindo uma interferência na síntese de poliglicanos, agindo, então, no mecanismo de aderência das bactérias sobre as superfícies dos dentes e da boca.

No presente estudo, buscou-se verificar a ação do extrato glicólico de *Punica granatum* sobre espécies de microrganismos aeróbios predominantes no sítio oral; *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*. Os resultados demonstram a eficácia do extrato da romã sobre as linhagens ensaiadas (Tabela 2).

Microorganismos	CIM (mg/ml)	CMM (mg/ml)
<i>Candida albicans</i> (ATCC 18804)	60	60
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	60	Ausente
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 4083)	Ausente	Ausente

Tabela 2. Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Microbicida Mínima (CMM) em meio líquido do extrato glicólico de *Punica granatum* (Romã) sobre *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*

Fonte: Autores.

Subprodutos de romã e punicalaginas são capazes de inibir significativamente o crescimento de *Escherichia coli* patogênica, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridia* e *Staphylococcus aureus*. (SORRENTI et al.,2019)

O extrato hidroalcoólico de romã a 10% apresentou atividade antibacteriana e apresentou ação inibitória sobre bactérias do gênero *Staphylococcus*, principalmente sobre *S. aureus* (MOREIRA et al.,2014). Já no presente estudo o extrato glicólico de romã apresentou concentração inibitória mínima sobre *S. aureus* na concentração de 60 mg/ml e sobre *C. albicans*.

De qualquer forma, e a partir da inibição bacteriana verificada, os resultados apresentados pelo presente estudo permitem destacar o potencial terapêutico do extrato de romã. Assim, a utilização de produtos naturais, principalmente a confecção de fitoterápicos a partir da romã, pode representar alternativa importante para a resistência bacteriana antibióticos e uma nova terapia.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo mostram a importância das indicações terapêuticas das plantas medicinais como método alternativo e de baixo custo já que a aplicação do extrato glicólico de romã foi capaz de promover atividade antimicrobiana sobre a cepa de *Candida albicans* obtendo concentração inibitória mínima e concentração microbicida mínima sobre o fungo o que valida a utilidade do extrato de *Punica granatum* como um potente agente antimicrobiano. Já sobre as cepas bacterianas, o extrato demonstrou atividade inibitória no crescimento apenas de *Staphylococcus aureus* e não promoveu nenhuma atividade antimicrobiana para *Enterococcus faecalis*.

REFERÊNCIAS

El-Bahy NM, Abdelaziz AR, Khalafalla RE. **In-vitro evaluation of Nigella sativa and Punica granatum effect on protoscolices of hydatid cysts**. Rev Bras Parasitol Vet. 2019 Jun 13;28(2):210-4. doi: 10.1590/S1984-29612019019

Moreira GMB, Matsumoto LS, Silva RMG, Domingues PF, Mello-Peixoto ECT. **Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de Punica granatum Linn. sobre Staphylococcus spp. isolados de leite bovino**. Pesq Vet Bras. 2014Jul;34(7):626-32. doi: 10.1590/S0100-736X2014000700003

NCCLS. M7-A6: **Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico: norma aprovada** – sexta edição [Internet]. Wayne, PA: NCCLS; 2003 [acesso em 2022 maio 24]. Disponível em: https://www.anvisa.gov.br/servicos/audite/manuais/clsi/clsi_opasm7_a6.pdf

NCCLS. M27-A2: **Método de referência para testes de diluição em caldo para determinação da sensibilidade de leveduras à terapia antifúngica: norma aprovada** – segunda edição [Internet]. Wayne, PA: NCCLS; 2002 [acesso em 2022 maio 24]. Disponível em: https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi_OPAS1M27-A2.pdf

Pereira JV, Pereira MSV, Sampaio FC, Sampaio MCC, Alves PM, Araújo CRF, Higino JS. **Efeito antibacteriano e antiaderente in vitro do extrato da Punica granatum Linn. sobre microrganismos do biofilme dental.** Rev Bras Farmacogn. 2006;16(1):88-93. doi: 10.1590/S0102-695X2006000100016

Rojas AM, Durango CJ, García SE, Castañeda-Peláez D, García DA, Gamboa F. **Anacardium excelsum phytochemical analysis and in vitro antimicrobial activity against oral cavity microorganisms.** Acta Odontol Latinoam. 2021 Sept;34(2):127-35. doi: 10.54589/aol.34/2/127

Saad GA, Léda PHO, Sá IM, Seixlack ACC. **Fitoterapia contemporânea: tradição e ciência na prática clínica.** 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2016.

Santos NQ. **A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar.** Texto Contexto Enferm. 2004;13(n.esp):64-70. doi: 10.1590/S0104-07072004000500007

Sorrenti V, Randazzo CL, Caggia C, Ballistreri G, Romeo FV, Fabroni S, et al. **Beneficial Effects of Pomegranate Peel Extract and Probiotics on Pre-adipocyte Differentiation.** Front Microbiol. 2019 Apr 3; 10:660. doi: 10.3389/fmicb.2019.00660

Tavangar A, Aslani A, Nikbakht N. **Comparative study of Punica granatum gel and triadent oral paste effect on recurrent aphthous stomatitis, a double blind clinical trial.** J Dent (Shiraz). 2019 Sep;20(3):184-9. doi: 10.30476/DENTJODS.2019.44913

Teixeira AR, Figueiredo AFC, França RF. **Resistência bacteriana relacionada ao uso indiscriminado de antibióticos.** Saúde Foco [Internet]. 2019 [acesso em 2022 maio 24] ;(11):853-75. Disponível em: https://portal.unisepe.com.br/unifia/wpcontent/uploads/sites/10001/2019/09/077_RESISTÊNCIA-BACTERIANA-RELACIONADA-AO-USO-INDISCRIMINADO-DE-ANTIBIÓTICOS.pdf

Teles DG, Costa MM. **Estudo da ação antimicrobiana conjunta de extratos aquosos de Tansagem (Plantago major L., Plantaginaceae) e Romã (Punica granatum L., Punicaceae) e interferência dos mesmos na ação da amoxicilina in vitro.** Rev Bras PI Med. 2014;16(2 Supl I):323-8. doi: 10.1590/1983-084X/11_123

CAPÍTULO 3

BIOPOLÍMEROS CONSERVAÇÃO DE CÉLULAS DE RIZOBACTÉRIAS EM MEIOS DE CULTURA ALTERNATIVOS

Data de aceite: 01/08/2022

Data de submissão: 02/06/2022

Manuella Costa Sousa

Universidade Federal do Tocantins
Gurupi – TO
<http://lattes.cnpq.br/0256046793020150>

Lillian França Borges Chagas

Universidade Federal do Tocantins
Gurupi – TO
<http://lattes.cnpq.br/6412767227344500>

Kellen Ângela Oliveira de Sousa

Universidade Federal do Tocantins
Gurupi -TO
<http://lattes.cnpq.br/5604850625107241>

Celso Afonso Lima

Universidade Federal do Tocantins
Gurupi – TO
<http://lattes.cnpq.br/0782819751659217>

Gabriel Soares Nobrega

Universidade Federal do Tocantins UFT
Gurupi – TO
<http://lattes.cnpq.br/0870938234878939>

Ana Licia Leão Ferreira

Universidade Federal do Tocantins UFT
Gurupi – TO
<http://lattes.cnpq.br/8744647007023408>

Milena Barreira Lopes

Universidade Federal do Tocantins UFT
Gurupi – TO
<http://lattes.cnpq.br/7450218592360093>

Dalilla Moreira de Oliveira Moura

Universidade Federal do Tocantins UFT
Gurupi – TO
<http://lattes.cnpq.br/1195107964910353>

Adriana Santos Neves Ribeiro

Universidade Federal do Tocantins UFT
Gurupi – TO
<http://lattes.cnpq.br/1020515710111294>

Aloísio Freitas Chagas Junior

Universidade Federal do Tocantins
Gurupi – TO
<http://lattes.cnpq.br/9286795171322846>

RESUMO: Os inoculantes são formulados com microrganismos de ação benéfica para plantas numa composição simples e acessível economicamente, sendo alguns empregados na fixação biológica de nitrogênio. Os inoculantes necessitam de um transportador de qualidade que garante a concentração de células ativas, além de tolerar variações de temperatura, umidade, aeração e tempo de armazenamento sem que apresente altos níveis de contaminantes, tornando necessário o uso de conservantes. Polímeros como carboximetilcelulose (CMC) e goma xantana (GX) têm sido usados para a fabricação de inoculantes relacionado à sua capacidade de limitar a transferência de calor, e às suas propriedades reológicas, que é a medida da viscosidade e tensão de escoamento. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência destes biopolímeros na preservação de células de *Bradyrhizobium elkanii*, *Bradyrhizobium diazoefficiens*, *Azospirillum* sp. e *Pseudomonas*

fluorescens em meios de cultura alternativos (MS1, MS2 e MS3) com 7, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180 e 210 dias a 5 °C. Os inoculantes foram avaliados por 210 dias, aferindo o pH e realizando contagem de UFC mL⁻¹ a partir do plaqueamento pela técnica Spread Plate. Foi possível concluir que a utilização dos biopolímeros foi eficiente na conservação e viabilidade de células dos microrganismos durante o período de armazenamento a 5 °C, sendo o meio de cultura MS2 o que obteve melhores resultados em UFC mL⁻¹ para os microrganismos nos quais foi testado, obtendo aos 210 dias 3,0 x10⁸ UFC mL⁻¹ com a utilização de CMC e 1,4 x10⁸ UFC mL⁻¹ com GX para *B. elkanii*, 1,3 x10⁷ UFC mL⁻¹ com CMC e 6,0 x10⁶ UFC mL⁻¹ com GX para *B. diazoefficiens*, 8,5 x10⁸ UFC mL⁻¹ com GX para *Azospirillum* sp. e que o meio MS3 foi viável para a conservação de *Pseudomonas fluorescens*, mantendo 1,5 x10⁸ UFC mL⁻¹ quando conservado com CMC.

PALAVRAS-CHAVE: Inoculante, Microrganismo, Conservante.

BIOPOLYMERS IN THE CONSERVATION OF RIZOBACTERIA CELLS IN ALTERNATIVE CULTURE MEDIA

ABSTRACT: The inoculants are formulated with microorganisms of beneficial action for plants in a simple and affordable composition; some being employed in biological nitrogen fixation. Inoculants need a quality carrier that guarantees the concentration of active cells, in addition to tolerating variations in temperature, humidity, aeration and storage time without presenting high levels of contaminants, making it necessary to use preservatives. Polymers such as carboxymethylcellulose (CMC) and xanthan gum (GX) have been used for the manufacture of inoculants related to their ability to limit heat transfer, and to their rheological properties, which is the measure of the viscosity and flow strain. Thus, the objective of this work was to evaluate the efficiency of these biopolymers in the preservation of *Bradyrhizobium elkanii*, *Bradyrhizobium diazoefficiens*, *Azospirillum* sp. e *Pseudomonas fluorescens* in alternative culture media (MS1, MS2 and MS3) with 7, 15, 30 45, 60, 90, 120, 150, 180 and 210 days at 5 °C. The inoculants were evaluated at 210 days, measuring pH and CFU mL⁻¹. It was concluded that the use of biopolymers was efficient in the conservation and viability of microorganism cells during the storage period at 5 °C, being the culture medium MS2 that obtained the best results in UFC mL⁻¹ for the microorganisms in which it was tested, obtaining at 210 days 3,0 x10⁸ CFU mL⁻¹ with use of CMC e 1,4 x10⁸ CFU mL⁻¹ with GX for *B. elkanii*, 1,3 x10⁷ CFU mL⁻¹ with CMC, and 6,0 x10⁶ CFU mL⁻¹ with GX for *B. diazoefficiens*, 8,5 x10⁸ CFU mL⁻¹ with GX for *Azospirillum* sp. and that the medium MS3 was feasible for the conservation of *Pseudomonas fluorescens*, keeping 1,5 x10⁸ CFU mL⁻¹ when preserved with CMC.

KEYWORDS: Inoculant, Microorganism, Preservative.

1 | INTRODUÇÃO

Inoculante é um produto formulado com uma ou diversas linhagens ou espécies de microrganismos de ação benéfica para o desenvolvimento de plantas em uma solução utilizada para transportá-los direto da fabricação numa determinada composição que seja de simples manuseio e acessível economicamente, podendo ser de origem inorgânica, orgânica ou até mesmo sintética (XAVIER et al., 2020). Alguns dos inoculantes mais utilizados são

os rizobiais, empregados principalmente para fixação biológica de nitrogênio, em culturas como soja e feijão (SILVA et al., 2013). As chamadas rizobactérias são promotoras de crescimento em plantas, atuam diretamente na supressão de doenças, na produção de fitormônios, solubilização de nutrientes do solo, aumento da permeabilidade das raízes e fixação de nitrogênio (MONCADA et al., 2020). São bactérias gram-negativas capazes de criar uma relação simbiótica de fixação de nitrogênio nas raízes de leguminosas, garantindo o desenvolvimento na ausência de fertilizante nitrogenado, além de diminuir as taxas de óxido nitroso (N_2O) no solo (RAMONGOLALAINA, 2020).

O processo de simbiose ocorre quando os rizóbios se diferenciam em bacteroides, os quais formam nódulos radiculares fixadores de nitrogênio intracelulares, que transformam moléculas de nitrogênio em amônio, aprimorando o crescimento vegetal, além de fazer com que a planta forneça ácidos dicarboxílicos para os rizóbios como fonte de carbono, energia e redutores (LIU, 2017).

O grande desafio da produção de inoculantes é ajustar as formulações para que tenha em campo o mesmo desempenho que no laboratório, garantindo a longevidade e estabilidade do microrganismo, com a capacidade de mantê-los viáveis após meses de armazenagem, sem a presença de contaminantes e mutações (SILVA et al., 2013). Há poucos estudos realizados na área de conservantes para inoculantes agrícolas, porém alguns autores apostam no uso de polímeros utilizados na indústria alimentícia e farmacêutica, como por exemplo o uso de amido e carboximetilcelulose (CMC) para avaliar o armazenamento de rizóbios (FERNANDES JÚNIOR et al., 2009).

Diversos tipos de polímeros como carboximetilcelulose, goma arábica, polivinilpirrolidona e alginato, têm sido usados para a fabricação de inoculantes relacionado à sua capacidade de limitar a transferência de calor, e às suas propriedades reológicas, sendo normalmente utilizados como compostos adesivos quando aplicados em sementes, e protegendo contra dessecação durante a secagem à vácuo (SILVA et al., 2010).

Alguns microrganismos produzem exopolímeros que são biopolímeros produzidos pelo metabolismo do próprio fungo ou bactéria, e até algas, e são importantes para a proteção das células microbianas contra substâncias antimicrobianas, dessecação, bacteriófagos e estresse osmótico (HUSSAIN et al., 2017). Alguns veículos a base de polímeros vêm sendo testados em rizobactérias, como por exemplo a goma xantana e a carboximetilcelulose testadas como adjuvantes em *Pseudomonas fluorescens* (PRAVEEN BIRADAR & SANTHOSH, 2018).

O polímero carboximetilcelulose é fisiologicamente inerte e atóxico, sendo muito aplicado em indústrias alimentícias e farmacêuticas em virtude de sua viscosidade (SANZ et al., 2005). Já para o uso em inoculantes, é devido sua propriedade adesiva que melhora a fixação em sementes de leguminosas, protegendo-as de bactérias nocivas durante o armazenamento, além de promover o encapsulamento das células prevenindo contra estresses ambientais (REIS & ALVES, 2015).

Goma xantana é um biopolímero natural biodegradável, de baixo custo, capaz de promover o encapsulamento de células bacterianas e liberá-las no ambiente após a degradação do material no ambiente (SILVA et al., 2010).

Neste estudo é abordado a utilização de carboximetilcelulose e goma xantana como conservante para inoculantes a base de *Bradyrhizobium elkanii*, *Bradyrhizobium diazoefficiens*, *Azospirillum* sp. e *Pseudomonas fluorescens*, em diferentes meios de cultura, com o objetivo de manter a concentração adequada de células bacterianas por um longo período de prateleira.

2 | METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados no laboratório de Agromicrobiologia Aplicada e Biotecnologia, da Universidade Federal do Tocantins – Campus de Gurupi, no período de abril de 2019 a setembro de 2020. As cepas dos microrganismos utilizados foram de *Bradyrhizobium elkanii*, *Bradyrhizobium diazoefficiens*, *Azospirillum* sp. e *Pseudomonas fluorescens*, todas obtidas do banco de cepas do laboratório, armazenadas a 5 °C em tubos de conservação com meios específicos para cada microrganismo.

Foram testados três meios de cultura, MS1, MS2, e MS3 cuja formulação está especificada na tabela 1. Os meios foram formulados no intuito de utilizar reagentes menos onerosos a fim de tornar a formulação simples, porém com nutrientes necessários aos microrganismos. Os meios de cultura foram preparados em Erlenmeyer de 1 L, devidamente identificados, e o pH foi ajustado para 6,0. Em seguida esterilizou-se o meio de cultura em autoclave a 121°C durante 30 minutos.

MS1	MS2	MS3
1000 mL H ₂ O (destilada)	1000 mL H ₂ O (destilada)	1000 mL H ₂ O (destilada)
10 mL de melão de soja	16 mL de melão de soja	5,0 g de peptona
0,50 g de fosfato de potássio	4,0 g de extrato de levedura	5,0 g de extrato de levedura
5,0 g de sulfato de magnésio		3,0 g de cloreto de sódio
2,5 g de extrato de levedura		3,0 g de sulfato de magnésio
		0,5 g de sulfato de potássio
		16 mL de melão de soja

Tabela 1: Composição do Meio de cultura MS1, MS2 e MS3

Fonte: Autor

Após o meio de cultura atingir temperatura ambiente, os Erlenmeyers foram inoculados com os microrganismos transferindo as cepas com o auxílio de uma alça de inoculação estéril, em cabine de fluxo laminar. Para o *Bradyrhizobium elkanii*, *Bradyrhizobium diazoefficiens* e *Azospirillum* sp. foram realizadas as fermentações nos

meios de cultura MS1 e MS2, e para o *Pseudomonas fluorescens* foi utilizado apenas o meio de cultura MS3, visto que para a fermentação deste microrganismo, é necessário um meio de cultura mais rico em nutrientes. Logo após a inoculação os Erlenmeyers foram colocados em incubadora Shaker (Novatecnica®) a 28°C, e 120 rpm por 96 horas.

Logo após a inoculação, retirou-se uma amostra de cada Erlenmeyer, aferiu-se o pH e realizou-se o plaqueamento por superfície pela técnica *Spread Plate* para a quantificação de microrganismo em unidades formadoras de colônia (UFC mL⁻¹) no tempo 0 h, nas diluições 10⁴, 10⁶ e 10⁸, e incubou-se as placas de Petri em estufa bacteriológica a 28 °C por 72 horas para que fosse possível fazer a contagem das colônias. O mesmo procedimento foi realizado com 24, 48, 72 e 96 h para controle da fermentação. O controle do pH foi realizado a partir das amostras retiradas em cada tempo de fermentação, a cada 24 horas, utilizando pHmetro digital de bolso (Hanna Instruments®).

As soluções conservantes foram preparadas adicionando 0,1 g do biopolímero em 100 mL de água destilada, e em seguida foi esterilizado a 121 °C por 30 minutos. Para cada meio de cultura, foi adicionado, após as 96 horas de fermentação, 15 mL da solução conservante em 150 mL de inóculo fermentado, fazendo a homogeneização, e depois transferindo para tubos de polipropileno do tipo Falcon de 15 mL, devidamente identificados, e armazenados em geladeira a 5 °C. Foram armazenados 10 tubos Falcon para cada tratamento, sendo um tratamento a testemunha sem o biopolímero, outro o inóculo com solução conservante de goma xantana, e inóculo com solução conservante de carboximetilcelulose.

Os tratamentos foram armazenados em geladeira a 5 °C, a fim de garantir melhor preservação do microrganismo, e foi retirado uma amostra a cada período de avaliação, sendo eles: 0, 7, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, e 210 dias.

Para cada avaliação foi realizado o plaqueamento pela técnica *Spread Plate*, em meio de cultura CCY, nas diluições 10⁴, 10⁶ e 10⁸, em triplicatas, incubando as placas em estufa bacteriológica a 28 °C, por 72 horas para que fosse realizada a contagem das colônias. Também foi realizado a aferição do pH das amostras utilizando-se pHmetro digital de bolso (Hanna Instruments®).

Os dados do experimento foram avaliados em fatorial duplo em delineamento inteiramente casualizado, sendo um fator o meio de cultura, e outro os biopolímeros. Os experimentos foram submetidos à análise de variância e teste de médias por meio do software estatístico Rstudio versão 1.3. As avaliações em plaqueamento pela técnica *Spread Plate* foram realizadas em triplicata, e os dados foram submetidos ao teste de Tukey a 5% de significância. Os gráficos foram confeccionados utilizando o software SigmaPlot versão 12.0.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Bradyrhizobium elkanii

Para a fermentação com *Bradyrhizobium elkanii* foi possível observar que desde o início o microrganismo adaptou-se melhor ao meio de cultura MS2, visto que no tempo zero obteve $1,0 \times 10^{10}$ UFC mL⁻¹ no meio MS1, e $4,5 \times 10^{10}$ UFC mL⁻¹ no meio MS2 (Tabela 2), o que pode ser explicado devido a composição, que tornou o meio MS1 mais ácido, impossibilitando que o ambiente estivesse adequado para o metabolismo deste microrganismo, que segundo Martins et al. (1997), considera que o pH ideal para *Bradyrhizobium* sp. seja entre 6,8 a 7,0.

Unidades Formadora de Colônias (UFC mL ⁻¹)						
Tempo (dias)	MS1			MS2		
	testemunha	CMC	GX	testemunha	CMC	GX
0	$1,0 \times 10^{10}$ a	$1,0 \times 10^{10}$ a	$1,0 \times 10^{10}$ a	$4,5 \times 10^{10}$ a	$4,5 \times 10^{10}$ a	$4,5 \times 10^{10}$ a
7	$2,5 \times 10^9$ b	$7,0 \times 10^9$ a	$8,0 \times 10^9$ a	$2,3 \times 10^{10}$ a	$3,6 \times 10^{10}$ a	$3,7 \times 10^{10}$ a
15	$1,5 \times 10^9$ b	$3,0 \times 10^9$ a	$2,0 \times 10^9$ ab	$1,6 \times 10^{10}$ b	$1,9 \times 10^{10}$ ab	$2,5 \times 10^{10}$ a
30	$1,3 \times 10^8$ c	$2,6 \times 10^8$ b	$7,0 \times 10^8$ a	$7,0 \times 10^9$ b	$8,0 \times 10^9$ b	$2,5 \times 10^{10}$ a
45	$3,0 \times 10^7$ c	$2,4 \times 10^8$ b	$7,0 \times 10^8$ a	$1,8 \times 10^9$ c	$3,5 \times 10^9$ b	$1,4 \times 10^{10}$ a
60	$2,3 \times 10^7$ b	$1,6 \times 10^8$ a	$3,2 \times 10^8$ a	$5,3 \times 10^8$ b	$8,7 \times 10^8$ b	$1,2 \times 10^{10}$ a
90	$5,2 \times 10^6$ b	$1,6 \times 10^8$ a	$2,9 \times 10^8$ a	$2,7 \times 10^8$ b	$8,0 \times 10^8$ a	$1,0 \times 10^9$ a
120	$4,7 \times 10^6$ c	$5,0 \times 10^7$ b	$1,3 \times 10^8$ a	$2,1 \times 10^8$ b	$5,2 \times 10^8$ a	$8,4 \times 10^8$ a
150	$3,6 \times 10^6$ c	$4,0 \times 10^7$ b	$1,0 \times 10^8$ a	$1,7 \times 10^8$ b	$4,6 \times 10^8$ a	$5,5 \times 10^8$ a
180	$1,0 \times 10^6$ b	$3,0 \times 10^7$ a	$3,0 \times 10^7$ a	$1,5 \times 10^8$ b	$3,7 \times 10^8$ a	$2,0 \times 10^8$ ab
210	$0,0 \times 10^0$ b	$2,0 \times 10^5$ a	$2,0 \times 10^5$ a	$3,0 \times 10^7$ c	$3,0 \times 10^8$ a	$1,4 \times 10^8$ b
CV(%) ⁽²⁾	2,45			1,53		

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. ⁽²⁾ CV: Coeficiente de Variação.

Tabela 2: Influência da utilização de carboximetilcelulose (CMC) e goma xantana (GX) na preservação de células de *Bradyrhizobium elkanii* durante 210 dias de armazenamento a 5 °C.⁽¹⁾

Fonte: Autor

Segundo Romeiro (2001), um método de preservação ideal deve ser simples, barato, e não demandar equipamento sofisticado, complementando o que diz Mariano, Assis e Silveira (2005), que cada microrganismo deveria ter seu próprio método de conservação já que cada um se comporta de uma determinada maneira quando exposto a diferentes condições. Para que ocorra a multiplicação de um microrganismo para a produção de inoculante é necessário realizar processos fermentativos utilizando um meio de cultura adequado para o metabolismo do microrganismo de interesse (VOSS et al., 2013). De acordo com Woiciechowski et al. (2013), a utilização do melaço de soja é uma alternativa

devido à redução de custos com matéria prima já que este composto é rico em açúcares, nitrogênio e outros macronutrientes.

A utilização dos biopolímeros carboximetilcelulose (CMC) e goma xantana (GX) garantiram maior número de UFC mL⁻¹ durante os 210 dias de armazenamento em relação ao tratamento sem conservante, para os dois meios de cultura testados. Na tabela 2 é possível observar que a partir do sétimo dia de conservação as médias dos tratamentos com conservante foram superiores nas avaliações no meio MS1. Para a fermentação no meio MS2, houve diferença estatística a partir dos 15 dias de armazenamento, sendo que desta data até 60 dias, os tratamentos com GX apresentaram maior número de unidades formadoras de colônias, e a partir dos 90 dias até o último dia de avaliação, os tratamentos com GX e CMC foram estatisticamente iguais, e superiores à testemunha.

De acordo com o Ministério da Agricultura, a concentração mínima em inoculantes deve ser de 10⁸ unidades formadoras de colônia, entretanto, conforme a “INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 13”, de 24 de março de 2011, os inoculantes para leguminosas devem conter pelo menos 1,0x10⁹ UFC por grama ou mililitro (MAPA, 2011), tornando o meio MS2 com adição de conservante a melhor opção, visto que alcançou valores mais próximos ao recomendado.

Goma xantana foi testada por Tumelero e Denardin (2008) com o objetivo de avaliar preservação das bactérias *Ralstonia solanacearum* e *Pectobacterium atrosepticum* por um longo período em diferentes formas de armazenamento, sendo em temperatura ambiente, refrigerador e freezer, e em todas as condições houve decréscimo na concentração de células viáveis.

Nas figuras 1 e 2 é possível observar que o pH das amostras aumentou, o que pode ser devido às características do microrganismo, já que segundo Lima et al. (2012), espécies de *Azorhizobium* e *Bradyrhizobium* tem a tendência de alcalinizar o meio de cultura, enquanto *Mesorhizobium*, *Rhizobium* e *Sinorhizobium* tendem a acidificar o meio.

A diferença da UFC inicial do meio MS1 pode ser devido ao pH do meio ter iniciado um pouco mais ácido, e segundo Perez et al. (1994), microrganismos simbióticos fixadores de nitrogênio são sensíveis à pH ácido, o que pode limitar o crescimento. Dentre os polímeros analisados por Denardin e Freire (2000) está a goma xantana, que foi empregada no intuito de acondicionar células de *Bradyrhizobium elkanii* durante oito meses, porém também se constatou o decréscimo da concentração de células viáveis.

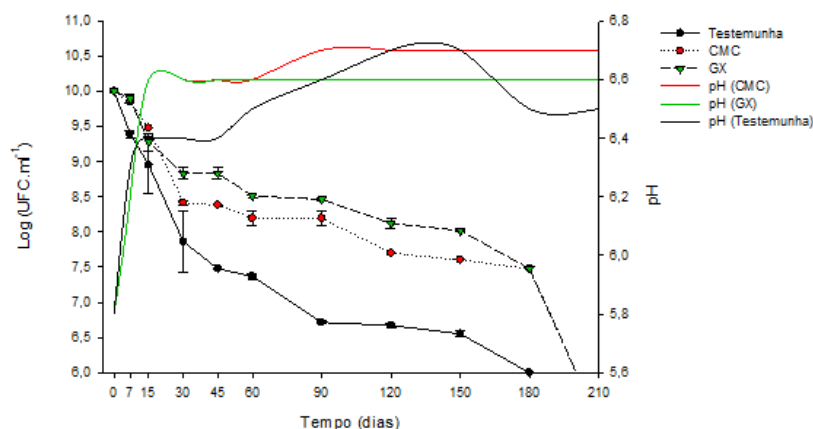


Figura 1: Relação da sobrevivência (UFC mL⁻¹) e o potencial hidrogeniônico (pH) de *Bradyrhizobium elkanii*, no meio MS1 durante 210 dias de conservação a 5 °C.

Fonte: Autor

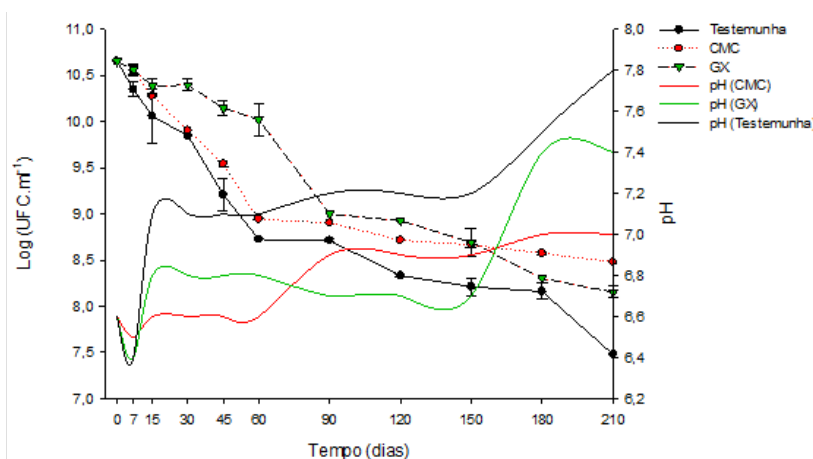


Figura 2: Relação da sobrevivência (UFC mL⁻¹) e o potencial hidrogeniônico (pH) de *Bradyrhizobium elkanii*, no meio MS2 durante 210 dias de conservação a 5 °C.

Fonte: Autor

A preservação de *Bradyrhizobium elkanii* e *Bradyrhizobium diazoefficiens* foi avaliada por Schuh (2005), e este alega que biopolímeros como goma xantana, goma jataí e goma guar, podem ser empregados como base para formulação de inoculantes.

Bradyrhizobium diazoefficiens

Para a fermentação com *Bradyrhizobium diazoefficiens*, foi possível observar que o microrganismo se adaptou bem nos dois meios de cultura, visto que ambos apresentaram $1,00 \times 10^{10}$ UFC mL⁻¹ inicialmente (Tabela 3), diferindo pouco o valor do pH inicial, que para o meio MS1 foi de 7,0 e 7,3 para o MS2. A utilização dos bipolímeros carboximetilcelulose

(CMC) e goma xantana (GX) garantiram maior número de UFC mL⁻¹ durante os 210 dias de armazenamento em relação ao tratamento sem conservante, para os dois meios de cultura testados.

Observando a tabela 3, é possível concluir que para o meio MS1, os tratamentos com conservantes garantiram maior número de colônias a partir do décimo quinto dia de armazenamento, e nas duas últimas avaliações, 180 e 210 dias, os valores de UFC mL⁻¹ foram respectivamente melhores no tratamento com goma xantana. Já para a fermentação no meio MS2, apesar de ter apresentado diferença estatística entre quinze e quarenta e cinco dias, onde o tratamento com goma xantana foi melhor, nas avaliações de 60, 150 e 180 dias, não diferiram estatisticamente, porém com 210 dias o tratamento com carboximetilcelulose foi o melhor, seguido do tratamento com goma xantana que também foi superior à testemunha.

De acordo com Mohamed, Hassan e Abdelgain (2019), inoculantes líquidos com aditivos poliméricos foram capazes de colaborar na sobrevivência de inoculantes rizobiais por até sessenta dias em temperatura ambiente e a 4 °C, enfatizando que a sobrevivência celular depende tanto do tipo de aditivo quanto do microrganismo utilizado. Para sobrevivência de *Rhizobium leguminosarum* em diferentes materiais transportadores testados por Argal et al. (2015), foi constatado que a população diminuiu gradativamente em todos os testes nos 180 dias de armazenamento.

Nas figuras 3 e 4 é possível observar o comportamento do microrganismo em relação ao pH do meio de cultura e ao tempo, que diminui a quantidade de células ao longo dos 210 dias, porém os resultados dos tratamentos com conservantes foram superiores à testemunha sem conservante. Na figura 3 é possível observar que entre trinta e sessenta dias a quantidade de UFC mL⁻¹ teve redução no declínio de células, e pode ser relacionado com os valores de pH, que ficaram entre valores de 6,8 e 7,1, e segundo Oliveira e Magalhães (1999), estirpes de *Bradyrhizobium* spp. têm crescimento melhor em pH mais básico a neutro do que ácido, explicando a manutenção da viabilidade das colônias no meio MS2 com CMC e GX.

Unidades Formadora de Colônias (UFC mL ⁻¹)						
Tempo (dias)	MS1			MS2		
	testemunha	CMC	GX	testemunha	CMC	GX
0	1,0x10 ¹⁰ a	1,0x10 ¹⁰ a	1,0x10 ¹⁰ a	1,0x10 ¹⁰ a	1,0x10 ¹⁰ a	1,0x10 ¹⁰ a
7	2,0x10 ⁹ a	3,5x10 ⁹ a	3,5x10 ⁹ a	6,0x10 ⁹ a	7,5x10 ⁹ a	8,0x10 ⁹ a
15	1,0x10 ⁹ b	2,5x10 ⁹ ab	3,0x10 ⁹ a	2,5x10 ⁹ b	5,0x10 ⁹ ab	6,5x10 ⁹ a
30	2,9x10 ⁸ b	1,0x10 ⁹ a	1,0x10 ⁹ a	5,9x10 ⁸ b	1,1x10 ⁹ b	5,5x10 ⁹ a
45	2,5x10 ⁸ b	5,8x10 ⁸ ab	1,1x10 ⁹ a	2,2x10 ⁸ b	3,5x10 ⁸ b	1,0x10 ⁹ a
60	6,0x10 ⁷ b	2,1x10 ⁸ a	3,9x10 ⁸ a	2,0x10 ⁸ a	2,5x10 ⁸ a	4,0x10 ⁸ a
90	2,5x10 ⁷ b	1,2x10 ⁸ a	1,5x10 ⁸ a	1,0x10 ⁸ b	2,3x10 ⁸ a	2,4x10 ⁸ a
120	9,8x10 ⁶ b	7,0x10 ⁷ a	1,5x10 ⁸ a	5,0x10 ⁷ b	2,0x10 ⁸ a	2,0x10 ⁸ a
150	7,0x10 ⁶ a	9,3x10 ⁸ a	1,5x10 ⁷ a	4,0x10 ⁷ a	6,5x10 ⁷ a	7,0x10 ⁷ a
180	9,0x10 ⁵ c	3,4x10 ⁶ b	1,0x10 ⁷ a	1,0x10 ⁷ a	1,5x10 ⁷ a	1,5x10 ⁷ a
210	6,0x10 ⁵ c	7,0x10 ⁵ b	1,4x10 ⁶ a	2,3x10 ⁵ c	1,3x10 ⁷ a	6,0x10 ⁶ b
CV (%) ⁽²⁾	2,07			1,84		

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. ⁽²⁾ CV: Coeficiente de Variação.

Tabela 3: Influência da utilização de carboximetilcelulose (CMC) e goma xantana (GX) na preservação de células de *Bradyrhizobium diazoefficiens* durante 210 dias de armazenamento a 5 °C ⁽¹⁾

Fonte: Autor

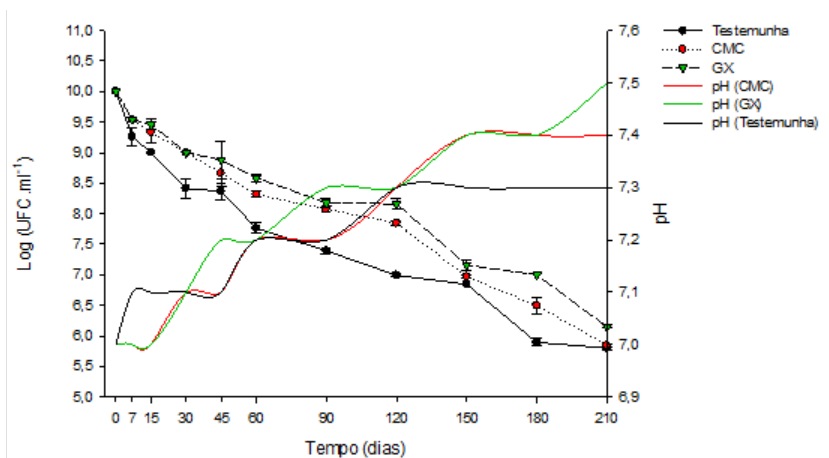


Figura 3: Relação da sobrevivência (UFC mL⁻¹) e o potencial hidrogeniônico (pH) de *Bradyrhizobium diazoefficiens*, no meio MS1 durante 210 dias de conservação a 5 °C.

Fonte: Autor

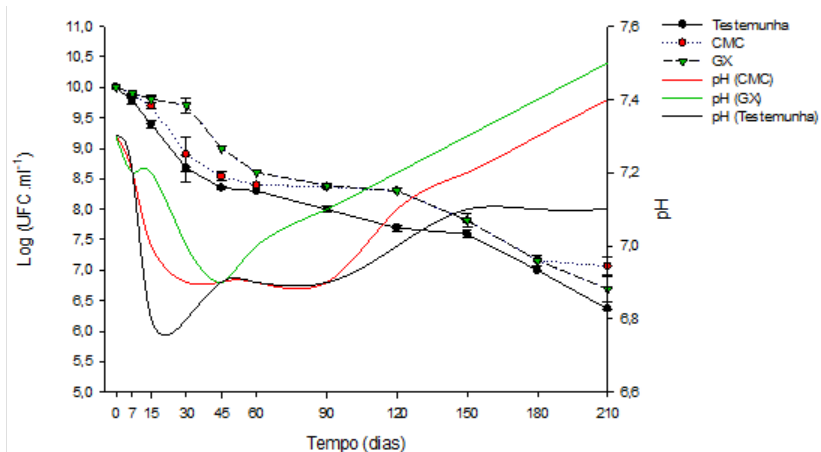


Figura 4: Relação da sobrevivência (UFC mL⁻¹) e o potencial hidrogeniônico (pH) de *Bradyrhizobium diazoefficiens*, no meio MS2 durante 210 dias de conservação a 5 °C.

Fonte: Autor

Rohr (2007) estudou a sobrevivência de células de *Bradyrhizobium japonicum*, armazenado por três meses a temperatura ambiente, adicionadas a misturas poliméricas de carboximetilcelulose e amido, em diferentes proporções, e pode concluir que a utilização destes polímeros contribuiu para a sobrevivência do microrganismo apresentando excelentes resultados, alcançando 8,64 log de células mL⁻¹ utilizando a proporção 50/50 de cada biopolímero.

Nas figuras 1, 2, 3, e 4 é possível observar a relação de aumento do pH em todos os tratamentos, com a queda no número de colônias, e segundo Somasegaran e Hoben (1994), como o pH ótimo para *Bradyrhizobium* é 6,8 ± 02, em pH de valores superiores a 7 ocorre a diminuição da taxa de crescimento bacteriano, que segundo Prescott, Harley e Klein (2002), se deve ao fato da presença de produtos de degradação de proteínas alcalinas durante o metabolismo, que modificam o estado de ionização das moléculas de nutrientes, diminuindo a disponibilidade para o microrganismo.

Azospirillum sp.

A fermentação com *Azospirillum sp.* foi realizada utilizando os meios de cultura MS1 e MS2, porém o microrganismo não se adaptou bem ao meio MS1 e foi constatado a morte celular 24 horas o início do cultivo, mas já em relação ao meio MS2, este foi eficaz no processo fermentativo, visto que alcançou 1,1x10¹⁰ em 96 horas de fermentação, com pH em torno de 6,5, muito próximo do pH ideal para este microrganismo, que segundo Romero-Perdomo et al. (2015) seria de 6,8.

Na tabela 4, é possível observar comportamento do *Azospirillum sp.* durante o período de prateleira com a adição dos biopolímeros, e perceber a influência destes na

manutenção das células viáveis.

Tempo (dias)	Unidades Formadora de Colônias (UFC mL ⁻¹)		
	testemunha	CMC	GX
0	1,1x10 ¹⁰ a	1,1x10 ¹⁰ a	1,1x10 ¹⁰ a
7	8,5x10 ⁹ a	1,1x10 ¹⁰ a	1,1x10 ¹⁰ a
15	5,5x10 ⁹ b	1,0x10 ¹⁰ a	1,0x10 ¹⁰ a
30	4,0x10 ⁹ b	9,0x10 ⁹ a	9,0x10 ⁹ a
45	2,5x10 ⁹ b	6,5x10 ⁹ a	7,5x10 ⁹ a
60	1,0x10 ⁹ c	2,5x10 ⁹ b	5,0x10 ⁹ a
90	1,9x10 ⁹ a	2,9x10 ⁹ a	3,0x10 ⁹ a
120	1,2x10 ⁹ b	2,2x10 ⁹ a	2,8x10 ⁹ a
150	1,0x10 ⁹ b	1,8x10 ⁹ a	2,1x10 ⁹ a
180	5,9x10 ⁸ b	7,2x10 ⁸ ab	1,0x10 ⁹ a
210	3,0x10 ⁷ c	5,3x10 ⁸ b	8,5x10 ⁸ a
CV (%) ⁽²⁾		1,12	

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. ⁽²⁾ CV: Coeficiente de Variação.

Tabela 4: Influência da utilização de carboximetilcelulose (CMC) e goma xantana (GX) na preservação de células de *Azospirillum* sp. durante 210 dias de armazenamento a 5 °C ⁽¹⁾ no meio de cultura MS1.

Fonte: Autor

Conforme visto na tabela, a partir de 15 dias de armazenamento houve diferença estatística entre os tratamentos, e a UFC mL⁻¹ apresentou melhores valores com a presença dos biopolímeros, dando destaque para a goma xantana, a qual obteve melhor resultado tanto ao longo do período de armazenamento como com 210 dias. De acordo com Bashan e De-Bashan (2015), apesar de existirem muitos meios de cultura para *Azospirillum* spp., a maioria deles não é considerada vantajosa devido a baixa quantidade de células e aos altos custos de produção, sendo então vantajoso a produção com meio de cultura MS2.

Na figura 5 está representado o comportamento do inoculante a base de *Azospirillum* armazenado durante 210 dias e sua relação com o pH do meio, podendo afirmar que entre 15 e 150 dias o pH se manteve dentro da faixa ideal para o microrganismo, que segundo Contreras-Ângulo et al. (2019), o meio de cultura para *Azospirillum* deve estar ajustado em torno de 7.

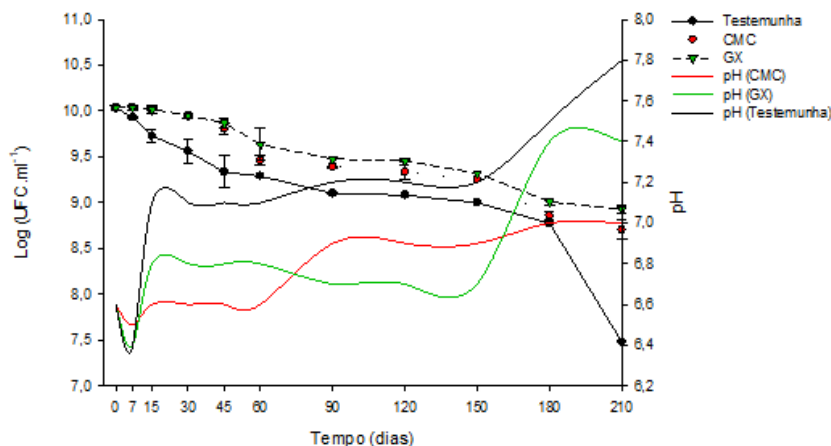


Figura 5: Relação da sobrevivência (UFC mL⁻¹) e o potencial hidrogeniônico (pH) de *Azospirillum* sp., no meio MS2 durante 210 dias de conservação a 5 °C.

Fonte: Autor

Alguns autores sugerem que um bom inoculante deva conter entre 10⁸ e 10⁹ UFC mL⁻¹, enquanto outros afirmam ser necessário apenas valores entre 10⁶ e 10⁷ UFC mL⁻¹, e com isso pode ser considerado que o inoculante produzido com meio de cultura MS2 adicionado de carboximetilcelulose ou goma xantana seja um produto eficiente para ser comercializado, visto que a matéria prima utilizada para a formulação do meio de cultura não é onerosa e os resultados de UFC mL⁻¹ conseguiram alcançar 10⁸ mesmo após 210 dias de armazenamento (GARCIA-FRAILE et al., 2015).

Reetha et al. (2014) observaram a sobrevivência de *Azospirillum lipoferum* utilizando o encapsulamento de células com alginato de sódio aditivado com ácido húmico, porém esta é uma alternativa dispendiosa em relação à adição dos biopolímeros diretamente no inoculante.

Outro fator relacionado ao período de armazenamento é a baixa oxigenação, uma vez que o recipiente fica fechado durante todo o período, e isso pode não ter prejudicado o *Azospirillum* sp., pois são microrganismos microaerófilos, e segundo Alexandre et al. (2000), a concentração ideal de oxigênio para o *Azospirillum brasiliense* é em torno de 4 μM.

Pseudomonas fluorescens

Para fermentação com *Pseudomonas fluorescens* foi utilizado o meio de cultura MS3, visto que este meio contém os reagentes mais adequados para o melhor desenvolvimento do microrganismo, e com ele foi possível obter 6,0x10⁹ UFC mL⁻¹ após 96 horas de fermentação. O meio MS3 foi elaborado visando suprir as necessidades nutricionais da *Pseudomonas fluorescens*, a qual é geralmente cultivada em meio King's B, porém ele não

garante longos períodos de prateleira, e segundo Biniarz et al. (2018) já foram testadas outras possíveis formulações otimizando este meio, o que levou a necessidade de desenvolver um meio alternativo que suplementasse a composição do melão de soja, componente testado com outros microrganismos. Na tabela 5 pode-se observar como a adição dos biopolímeros a este meio após a fermentação foi eficiente para manter a viabilidade das células, onde já com 7 dias após o início do período de prateleira pode ser observado diferença entre os tratamentos.

Durante as avaliações foi constatado que a utilização de goma xantana garantiu maior UFC mL⁻¹ em todos os tempos, e que após os 7 dias, apenas entre 45 e 90 dias a utilização de carboximetilcelulose foi estatisticamente igual tanto ao tratamento sem conservação quanto com goma xantana, mas que após 90 dias apresentou valores superiores de UFC mL⁻¹ em relação à testemunha.

Unidades Formadora de Colônias (UFC mL ⁻¹)				
Tempo (dias)	testemunha	CMC	GX	
0	6,0x10 ⁹ a	6,0x10 ⁹ a	6,0x10 ⁹ a	
7	5,0x10 ⁹ c	1,3x10 ⁹ b	6,3x10 ⁹ a	
15	2,5x10 ⁸ b	7,5x10 ⁸ a	5,0x10 ⁸ a	
30	2,0x10 ⁸ a	3,6x10 ⁸ a	3,9x10 ⁸ a	
45	1,7x10 ⁸ b	2,1x10 ⁸ ab	3,7x10 ⁸ a	
60	1,2x10 ⁸ b	2,1x10 ⁸ ab	3,7x10 ⁸ a	
90	1,0x10 ⁸ b	1,9x10 ⁸ ab	3,4x10 ⁸ a	
120	9,0x10 ⁷ b	1,8x10 ⁸ a	2,5x10 ⁸ a	
150	7,5x10 ⁷ b	1,8x10 ⁸ a	1,6x10 ⁸ a	
180	6,5x10 ⁷ b	1,7x10 ⁸ a	1,3x10 ⁸ a	
210	5,0x10 ⁷ b	1,5x10 ⁸ a	1,0x10 ⁸ a	
CV (%) ⁽²⁾	1,75			

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. ⁽²⁾ CV: Coeficiente de Variação.

Tabela 5: Influência da utilização de carboximetilcelulose (CMC) e goma xantana (GX) na preservação de células de *Pseudomonas fluorescens* durante 210 dias de armazenamento a 5 °C (1) no meio de cultura MS3.

Fonte: Autor

De acordo com Biniarz et al. (2018) e Scales et al. (2014), o pH ideal para o crescimento de *Pseudomonas* é entre 4 e 8, porém foi observado que em pH muito baixo ocorre a inibição do microrganismo e de acordo com a figura 6, é notável que o pH entre 7,3 e 7,5 obteve melhores resultados na preservação do número de células.

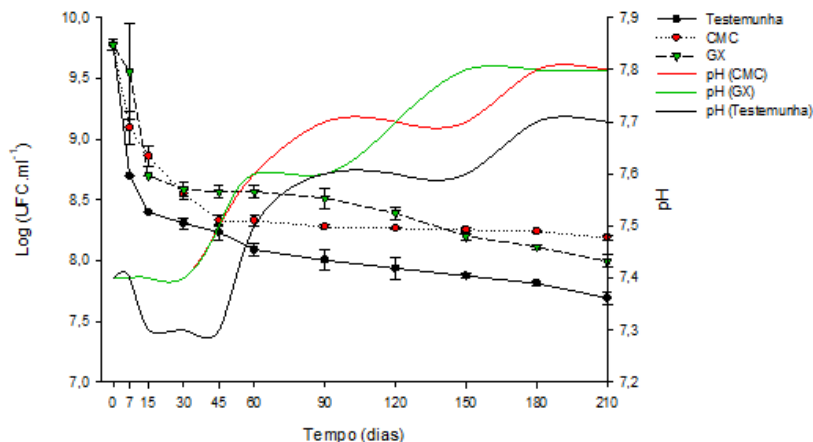


Figura 6: Relação da sobrevivência (UFC mL⁻¹) e o potencial hidrogeniônico (pH) de *Pseudomonas fluorescens*, no meio MS3 durante 210 dias de conservação a 5 °C.

Fonte: Autor

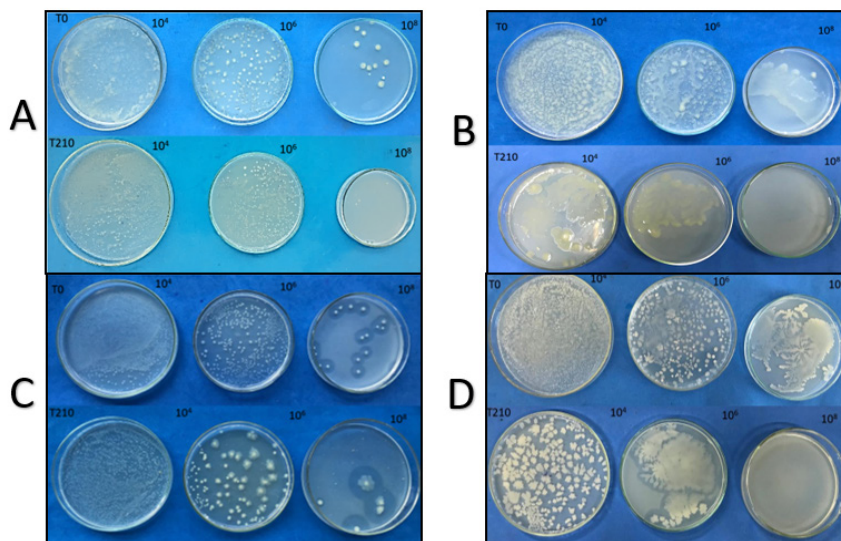
Em estudo feito por Gonçalves et al. (2017), foi notado que o crescimento de *Pseudomonas fluorescens* se deu melhor em condições de pH mais próximo ao neutro, o que pode comprovar o bom resultado obtido na fermentação com o meio MS3 que alcançou 10⁹ UFC mL⁻¹ em pH igual a 7,3.

Foi comprovado por Trivedi et al. (2005) que a utilização de alginato na formulação de inoculante com *Pseudomonas corrugata* garantiu resultados superiores em relação a inoculantes líquidos ou a base de carvão para inoculação de plantas de milho.

A conservação de inoculantes, segundo Balatti (1992) tem como característica indispensável a manutenção da viabilidade das células microbianas sem a presença de contaminantes, e que o método de preservação não cause mutações ou variação das características funcionais do microrganismo. Sendo assim, foi possível concluir com os dados apresentados que a utilização de carboximetilcelulose e goma xantana foram eficazes na manutenção das características primárias dos microrganismos nos meios de cultura testados.

Nas figuras 7A, 7B, 7C e 7D estão representadas respectivamente as unidades formadoras de colônia (UFC mL⁻¹) de *Bradyrhizobium elkanii*, *Bradyrhizobium diazoefficiens* e *Azospirillum* sp. no meio de cultura MS2, e *Pseudomonas fluorescens* no meio de cultura MS3, resultado do plaqueamento pela técnica Spread Plate, sendo as placas superiores referentes ao tempo 0, nas diluições 10⁴, 10⁶ e 10⁸, respectivamente, e nas placas inferiores está representado da mesma maneira o plaqueamento do tempo 210 dias, sendo que nas figuras 7A e 7C, as placas com 210 dias é resultado da conservação com o biopolímero goma xantana, e nas figuras 7B e 7D com carboximetilcelulose. confirmando a eficácia destes biopolímeros em manter a viabilidade celular da bactéria, sem a presença de

contaminantes, e sem alteração em suas características morfológicas.



A: *Bradyrhizobium elkanii*, B: *Bradyrhizobium diazoefficiens*, C: *Azospirillum* sp., D: *Pseudomonas fluorescens*.

Figura 7: Unidade formadora de colônia (UFC mL⁻¹) de *Bradyrhizobium elkanii*, *Bradyrhizobium diazoefficiens* e *Azospirillum* sp. nos tempos zero (T0) e 210 dias (T210), no meio MS2, e *Pseudomonas fluorescens* no meio MS3.

Fonte: Autor

Nestas figuras foi observado o decréscimo do número de colônias após os 210 dias de armazenamento, porém foi satisfatório pelo fato de não ter a presença de microrganismos contaminantes, o que poderia influenciar na competição por nutrientes entre o microrganismo e algum possível contaminante, acarretando na diminuição de células viáveis, e conseqüente ineficiência do inoculante, estando de acordo com o que diz Deaker et al. (2004) que consideram o número de células viáveis e o número máximo de contaminantes toleráveis, como sendo os parâmetros necessários para classificar um inoculante.

Confrontando os resultados obtidos nesta pesquisa de que o meio de cultura MS2, e MS3 com adição de biopolímero goma xantana ou carboximetilcelulose foram eficientes na manutenção de células viáveis das rizobactérias testadas, e a ausência de contaminantes, com os resultados de uma pesquisa realizada por Herrmann e Lesueur (2013) na qual foram avaliados 65 inoculantes comerciais, sendo que destes, somente 37% estavam puros e 63% apresentavam contaminação por uma ou mais estirpes bacterianas, o inoculante produzido pode ser considerado de boa qualidade.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de biopolímeros como goma xantana (GX) e carboximetilcelulose (CMC) foi eficiente na conservação e viabilidade de células de *Bradyrhizobium elkanii*, *Bradyrhizobium diazoefficiens*, *Azospirillum* sp. e *Pseudomonas fluorescens* durante 210 dias de armazenamento a 5 °C.

O meio de cultura MS2 composto por melão de soja e extrato de levedura foi mais eficiente do que o meio MS1 na manutenção de UFC mL⁻¹.

REFERÊNCIAS

ALEXANDRE, G.; GREER, S. E.; ZHULIN, I.B. Energy taxis is the dominant behavior in *Azospirillum brasilense*. **Journal of Bacteriology**, v. 182, n. 21, p. 6042-6048, 2000.

ARGAL, M. S.; RAWAT, A. K.; AHER, S. B.; RAJPUT, P. S. Bioefficacy and shelf life of *Rhizobium leguminosarum* loaded on different carriers. **Applied Biological Research**, v. 17, n. 2, p. 1-7, 2015.

BALATTI, A. P. Producción de inoculantes para Leguminosas: tecnología de las fermentaciones aplicada a los géneros *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*. Santa Rosa, Argentina. **Ediciones Trabuco Editorial**. 152 p., 1992.

BASHAN, Y.; DE-BASHAN, L. E. Inoculant Preparation and Formulations for *Azospirillum* spp. In: **Handbook for Azospirillum**. Springer, Cham, 2015. p. 469-485.

BINIARZ, P.; COUTTE, F.; GANCEL, F.; LUKASZEWICZ, M. High-throughput optimization of medium components and culture conditions for the efficient production of a lipopeptide pseudofactin by *Pseudomonas fluorescens* BD5. **Microbial cell factories**, v. 17, n. 1, p. 121, 2018.

CONTRERAS-ANGULO, J. R.; MATA, T. M.; CUELLAR-BERMEDEZ, S. P.; CAETANO, N. S.; CHANDRA, R. GARCIA-PEREZ, J. S.; MUYLEAERT, K.; PARRA-SALDIVAR, R. Symbiotic co-culture of *Scenedesmus* sp. and *Azospirillum brasilense* on N-deficient media with biomass production for biofuels. **Sustainability**, v. 11, n. 3, p. 707, 2019.

DEAKER, R.; ROUGHLEY, R.; KENNEDY, I. R. Legume seed inoculation technology: a review. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 36, n. 8, p. 1275-1288, 2004

DENARDIN, N. D.; FREIRE, J. R. J. Assessment of polymers for the formulation of legume inoculants. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 16, n. 3, p. 215-217, 2000.

FERNANDES JÚNIOR, P. I.; ROHR, T. G.; OLIVEIRA, P. J. D.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G. Polymers as carriers for rhizobial inoculant formulations. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 9, p. 1184-1190, 2009.

GARCÍA-FRAILE, P.; MENÉNDEZ, E.; RIVAS, R. Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry. **AIMS Bioeng**, v2, p.183–205, 2015.

GONÇALVES, L. D. D. A.; PICCOLI, R. H.; PERES, A. D. P.; SAÚDE, A. V. Predictive modeling of *Pseudomonas fluorescens* growth under different temperature and pH values. *Brazilian journal of microbiology*, v. 48, n. 2, p. 352-358, 2017.

HERRMANN, L.; LESUEUR, D. Challenges of formulation and quality of biofertilizers for successful inoculation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 97, n. 20, p. 8859-8873, 2013.

HUSSAIN, A.; ZIA, K. M.; TABASUM, S.; NOREEN, A.; ALI, M.; LQBAL, R.; ZUBER, M. Blends and composites of exopolysaccharides; properties and applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 94, p. 10–27, 2017.

LIMA, A. A.; FERNANDES JÚNIOR, P. I.; PASSOS, S. R.; PAULO, F. S.; NOSOLINE, S. M.; FARIA, S. M.; GUERRA, J. G. M.; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R. Diversidade e capacidade simbiótica de rizóbios isolados de nódulos de *Mucuna-Cinza* e *Mucuna-Anã*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, n. 2, p. 337-348 2012.

LIU, Y.; JIANG, X.; GUAN, D.; ZHOU, W.; MA, M.; ZHAO, B.; CAO, F. LI, L.; LI, J. Transcriptional analysis of genes involved in competitive nodulation in *Bradyrhizobium diazoefficiens* at the presence of soybean root exudates. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017.

MARIANO, R. L. R.; ASSIS, S. M. P.; SILVEIRA, E. Preservação de bactérias fitopatogênicas. **Manual de Práticas em Fitobacteriologia**. 2a. ed. Recife. UFRPE, p. 35-45, 2005.

MARTINS, L. M. V.; XAVIER, G. R.; NEVES, M. C. P.; RUMJANEK, N. G. Características relativas ao crescimento em meio de cultura e a morfologia de colônias de "rizóbio". **Embrapa Agrobiologia-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 1997.

MAPA - **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**. Instrução Normativa Nº 13, de 24/03/2011. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/>> Acesso em: 6 jun. 2020.

MOHAMED, S. S.; HASSAN, M. A.; ABDELGANI, M.E. The shelf life of Rhizobial liquid inoculants amended with diferente polymeric additives. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**. P 28-36, 2019.

MONCADA, A.; MICELI, A.; VETRANO, F. Use of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and organic fertilization for soilless cultivation of basil. **Scientia Horticulturae**, v. 275, p. 109733, 2020.

OLIVEIRA, L.A.; MAGALHÃES, H.P. de. Quantitative evaluation of acidity tolerance of root nodule bacteria. **Revista de Microbiologia**. v. 30: 203–208, 1999.

PEREZ-GALDONAF, R.; KAHN, M. L. Effects of organic acids and low pH on *Rhizobium meliloti* 104A14. **Microbiology**, v. 140, n. 5, p. 1231-1235, 1994.

PRESCOTT, L. M., HARLEY, J. P., KLEIN D. A., **Microbiology, McGraw-Hill**, New York, 2002.

PRAVEEN BIRADAR, B.J.; SANTHOSH, G.P., Cell Protectants, Adjuvants, Surfactant and Preservative and their Role in Increasing the Shelf Life of Liquid Inoculant Formulations of *Pseudomonas fluorescens*. **International Journal of Pure e Applied Bioscience**. V. 6, n. 4, p. 116-122, 2018.

RAMONGOLALAINA, C. Dual-luciferase assay and siRNA silencing for nodD1 to study the competitiveness of *Bradyrhizobium diazoefficiens* USDA110 in soybean nodulation. **Microbiological Research**, p. 126488, 2020.

REIS, V. M.; ALVES, G. C. Inoculantes contendo bactérias fixadoras de nitrogênio para aplicação na cultura do milho. **Ciências Agrárias: Tecnologias e Perspectivas**. p. 82 – 97, 2015.

REETHA, D.; KUMARESAN, G.; JOHN MILTON, D. Studies to improve the shelf life of *Azospirillum lipoferum* immobilized in alginate beads. **International Journal of Recent Scientific Research**, v. 5, p. 2178-2182, 2014.

ROHR, T.G. **Estudo reológico da mistura carboximetilcelulose/ amido e sua utilização como veículo de inoculação bacteriano**. 2007. 113f. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2007.

ROMEIRO, R. S. Preservação de bactérias fitopatogênicas. 1.ed. Viçosa. **UFV**, 2001. Pp. 87-96.

ROMERO-PERDOMO, F.; CAMELO-RUSINQUE, M.; CRIOLLO-CAMPOS, P.; BONILLA-BUITRAGO, R. Efecto de la temperatura y el pH en la producción de biomasa de *Azospirillum brasilense* C16 aislada de pasto guinea. **Pastos y Forrajes**, v. 38, n. 3, p. 171-175. 2015.

SANZ, T.; FERNÁNDEZ, M. A.; SALVADOR, A.; MUNOZ, J.; FISZMAN, S. M. Thermogelation properties of methylcellulose (MC) and their effect on a batter formula. **Food Hydrocolloids**, v. 19, n. 1, p. 141-147, 2005.

SCALES, B. S.; DICKSON, R. P.; LIPUMA, J. J.; HUFFNAGLE, G. B. Microbiology, genomics, and clinical significance of the *Pseudomonas fluorescens* species complex, an unappreciated colonizer of humans. **Clinical microbiology reviews**, v. 27, n. 4, p. 927-948, 2014.

SILVA, M. F.; OLIVEIRA, P. J.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G.; REIS, V. M. Inoculantes formulados com polímeros e bactérias endofíticas para a cultura da cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 11, p. 1437-1443, 2010.

SILVA, C. R. R.; JUNIOR, M. A. L.; FIGUEIREDO, M. V. B.; STAMFORD, N. P.; ALVES, G. Viabilidade de conservação de rizóbios por condicionadores líquidos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 4, p. 661-668, 2013.

SOMASEGARAN, P., HOBEN, H. J. Handbook for rhizobia: methods in legume-Rhizobium technology. **Springer Science & Business Media**, 1994.

TRIVEDI, P.; PANDEY, A.; PALNI, L. M. S. Carrier-based preparations of plant growth-promoting bacterial inoculants suitable for use in cooler regions. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, n. 6-7, p. 941-945, 2005.

TUMELERO, A. I.; DENARDIN, N. D. Uso de polímeros em formulações para preservação de *Pectobacterium atrosepticum* e *Ralstonia solanacearum*. **Summa phytopathol.** Botucatu, v. 34, n. 1, p. 58-61. 2008.

VOSS, G. B. **Produção de *Bacillus subtilis* em biorreator airlift e sua aplicação no controle de nematoide de galhas do tomateiro**. 2013. 115f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

XAVIER, G.R.; RUMJANEK, N. G.; GUEDES, R. E. Inoculante. **Agência EMBRAPA de Informação Tecnológica**, Brasília. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 19 jun. 2020.

WOICIECHOWSKI, A. L.; CARVALHO, J. C.; SPIER, M. R.; SOCCOL, C. Emprego de resíduos agroindustriais em bioprocessos alimentares. **Biotecnologia de alimentos**, coleção Ciência, tecnologia, engenharia de alimentos e nutrição, editora Atheneu, São Paulo, Rio de Janeiro e Belo Horizonte, v. 1, p. 143-172, 2013.

CAPÍTULO 4

CONTROLE DE *Aedes aegypti* NO DISTRITO FEDERAL

Data de aceite: 01/08/2022

Rosilene Gomes Sousa

Ciências Biológicas, da Faculdade Anhanguera de Brasília – Polo Águas Claras, Águas Claras, Distrito Federal

Lucas Santos de Sousa

Ciências Biológicas, da Faculdade Anhanguera de Brasília – Polo Águas Claras, Águas Claras, Distrito Federal

Ana Cristina Rodrigues da Cruz

Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

Lana Cristina Evangelista Ferreira de Sá

Ciências Biológicas, da Faculdade Anhanguera de Brasília – Polo Águas Claras, Águas Claras, Distrito Federal

Michellen Maria Gomes Resende

Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

Larissa Leite Barbosa

Biomedicina e Farmácia, da Faculdade Anhanguera de Brasília – Polo Águas Claras, Águas Claras, Distrito Federal

Joselita Brandão de Sant'Anna

Biomedicina e Farmácia, da Faculdade Anhanguera de Brasília – Polo Águas Claras, Águas Claras, Distrito Federal

Raphael da Silva Affonso

Biomedicina e Farmácia, da Faculdade Anhanguera de Brasília – Polo Águas Claras, Águas Claras, Distrito Federal

Eleuza Rodrigues Machado

Ciências Biológicas, Biomedicina, Enfermagem e Farmácia, da Faculdade Anhanguera de Brasília – Polo Águas Claras, Águas Claras, Distrito Federal

RESUMO: *Aedes aegypti* ocupa diversas regiões do Mundo, provocando uma série de impactos sanitários, em virtude da transmissão de doenças como: Dengue, Chikungunya, Zika e febre amarela urbana, etc. Nesse âmbito, a presente pesquisa objetivou discorrer acerca do monitoramento e dos métodos de combate ao inseto executados no Distrito Federal (DF), considerando as vantagens e desvantagens de cada processo. Assim, utilizou-se o método de revisão bibliográfica na pesquisa, no qual 66 referências relevantes foram selecionadas utilizando as plataformas: SciELO e LILACS, bem como manuais e sites governamentais. Na busca dos artigos usaram as palavras-chave: *A. aegypti*; Combate; Distrito Federal. Caracterizado pelas naturezas qualitativa e quantitativa, o trabalho contou com a coleta de dados presentes em informativos do Levantamento de Índices do *A. Aegypti* (LIRAA), dando importância aos meses de fevereiro, maio, agosto e novembro de 2018 e de 2019, concomitantemente. Inicialmente, discorreu-se sobre os aspectos gerais do inseto e, posteriormente, dados acerca da distribuição

e índices de infestação no DF foram apresentados. Em vista do exposto, concluiu-se que os dados aqui apresentados são imprescindíveis à construção de projetos e à execução de políticas públicas mais estratégicas contra o *A. aegypti* no DF, e também que as medidas atualmente adotadas devem ser aprimoradas, enquanto técnicas inovadoras têm de ser estudadas e colocadas à prova, visando reduzir o número de infecções e óbitos causados pelas doenças transmitidas por este mosquito.

PALAVRAS-CHAVE: *A. aegypti*; Controle; Distrito Federal.

ABSTRACT: *Aedes aegypti* occupies different regions of the world, causing a series of health impacts, due to the transmission of diseases such as: Dengue, Chikungunya, Zika and urban yellow fever, etc. in this scope, the present research aimed to discuss about the monitoring and the methods of fighting the insect performed in the Federal District (DF), considering the advantages and disadvantages of each process. Thus, the bibliographic review method was used in the research, in which 66 relevant references were selected using the platforms: SciELO and LILACS, as well as government manuals and websites. In the search for articles, the following keywords were used: *A. aegypti*; Combat; Federal District. Characterized by the qualitative and quantitative natures, the work relied on the collection of data present in information from the survey of *A. aegypti* index (LIRAA), giving importance to the months of February, May, August and November 2018 and 2019, considerably. Initially, the general aspects of the insect was discussed and, later, data about the distribution and infestation index in the DF were presented. In view of the foregoing, it is concluded that the data presented here are essential for the construction of projects and the implementation of more strategic public policies against *A. aegypti* in DF, and also that the measures currently adopted must be improved, while innovative techniques must be studied and put to the test, in order to reduce the number of infections and deaths caused by diseases transmitted by this mosquito.

KEYWORDS: *A. aegypti*; Control; Federal District.

1 | INTRODUÇÃO

A. aegypti (Diptera: Culicidae) é encontrado em diversos países, com maior predominância naqueles localizados nas zonas tropicais. No Brasil, ele está presente em todas as regiões, causando sérios impactos à saúde pública, pois é o principal vetor da Dengue, Chikungunya, Zika e febre amarela urbana. Em território brasileiro, é popularmente conhecido como “mosquito da Dengue”, devido ao elevado nível de propagação da doença (GLASSER; GOMES, 2002; SILVA; SANTOS, 2018; BRASIL, 2019).

É evidente que, nas décadas mais recentes, houve um pronunciamento considerável das populações do mosquito. Tal fato, pode ser justificado pelo crescimento populacional humano, juntamente à ausência de planejamento estrutural dos centros urbanos, que expandem de maneira desordenada, promovendo o desenvolvimento de uma infraestrutura precária, criando, portanto, um ambiente favorável à proliferação do mosquito, aumentando as possibilidades de transmissão de arboviroses (VELÁSQUEZ *et al.*, 2007; ACIOLE, 2009; BRASIL, 2014).

O aumento do número de casos de Dengue registrados no DF foi a principal motivação para a realização deste estudo. Apesar das campanhas de combate à doença e controle do mosquito, há escassez significativa na quantidade de dados acerca dos focos do mosquito em ambientes públicos, residências, indústrias, etc. Assim, a indagação que esta pesquisa procurou resolver foi: como se dá o monitoramento e o combate ao mosquito no DF? (SILVA *et al.*, 2006; CATÃO *et al.*, 2009).

Destarte, o objetivo primário desta pesquisa foi redigir sobre o monitoramento e os métodos de combate contra o *A. aegypti* no DF, evidenciando suas vantagens e desvantagens. A partir do objetivo geral da pesquisa, delimitaram-se objetivos específicos: 1) apresentar as principais características do *A. aegypti*; 2) analisar o monitoramento do inseto no DF; 3) avaliar os métodos de combate ao *A. aegypti*, explanando o uso e a eficácia.

2 | METODOLOGIA

O desenvolvimento do artigo foi baseado no método bibliográfico de pesquisa, dentro do qual foram seguidas as etapas: definição do tema; seleção de questões para revisão; estabelecimento de critérios de busca, inclusão e exclusão de estudos, definindo, assim, as informações a serem extraídas dos trabalhos selecionados. Utilizaram-se estudos publicados entre as décadas de 90 e 2000, encontrados a partir das palavras-chave: *A. aegypti*; Combate; e Distrito Federal. Realizou-se uma varredura de publicações nas bases de dados SciELO e LILACS, manuais e *sites* governamentais, nos quais foram encontrados e selecionados 66 trabalhos confeccionados em língua inglesa e portuguesa.

Diante disso, a pesquisa foi desenvolvida de forma segmentada, em capítulos, sendo o primeiro formado pela contextualização do tema, contendo o histórico e os aspectos gerais do *A. aegypti*. Na segunda parte, descreveu-se todo o esquema de monitoramento do *A. aegypti* no DF, utilizando com fonte o LIRAA, banco de dados informativo de resumo epidemiológico, do qual extraíram-se informações sobre os meses de fevereiro, maio, agosto e novembro de 2018 e de 2019. No último capítulo, analisaram-se os dados tratados no tópico anterior, informando a eficácia do combate ao mosquito no DF, delineando, sob uma perspectiva geral, as vantagens e desvantagens.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Histórico do *A. aegypti*

Entre outros aspectos, a capacidade de transmitir doenças virais, especialmente a Dengue, é o que confere importância ao *A. aegypti*. O epíteto específico da espécie remete ao Egito, onde o inseto foi encontrado e descrito pela primeira vez por Linnaeus, em 1762. O invertebrado está presente em trópicos e subtropicais – difundido, por exemplo,

por grande parte do continente americano; sudeste da Ásia; e em todo o território indiano. Suspeita-se que o artrópode chegou ao Brasil entre os séculos XVI e XIX, em decorrência do enorme fluxo de embarcações advindas de outras regiões do mundo no período colonial, época em que a comercialização e o transporte de africanos escravizados eram massivos (FORATTINI, 2002; GETIS *et al.*, 2008; OLIVEIRA, 2013).

A disseminação do *A. aegypti* ocorreu com a destruição do habitat natural provocada pelas pressões antrópicas. Com isso, parte da população silvestre migrou em direção aos grandes centros urbanos, adaptando-se facilmente à sobrevivência em meio aos aglomerados humanos (ZARA *et al.*, 2016; SOUSA *et al.*, 2022).

Apesar de possuir grande potencial adaptativo, o *A. aegypti* é dificilmente encontrado em ambientes silvestres e semissilvestres, visto que tais locais são pouco ocupados pelo homem. Porém, a alta taxa de proliferação da espécie no espaço urbano é, em grande medida, causada pelas atividades antrópicas que resultam no descarte indiscriminado de resíduos sólidos sintéticos, como: pneus e materiais de plástico e de vidro, que são potenciais criadouros do inseto (NATAL, 2002; VAREJÃO *et al.*, 2005; ZARA *et al.*, 2016).

Em meados do século XX, no Brasil, as políticas de saúde pública de combate ao mosquito se tornaram mais consistentes, em virtude do aumento do número de casos de febre amarela urbana, que levou milhares de indivíduos a óbito. Na época, o controle do inseto se dava por métodos mecânicos e químicos, nos quais os possíveis criadouros eram remanejados e/ou submetidos a doses de inseticidas. No entanto, tais técnicas não surtiam efeitos inteiramente satisfatórios, pois não garantiam a obliteração definitiva do vetor (COSTA *et al.*, 2011).

Embora a pouca efetividade da metodologia de combate ao inseto, registros apontam que a sua erradicação foi conseguida em dois momentos: 1958 e 1973. Todavia, três anos após ao último desarraigamento, houve a reintrodução do *A. aegypti* no Brasil, devido a falhas cometidas pela vigilância epidemiológica, e também em razão do crescimento populacional desenfreado sucedido em todos os estados brasileiros, o que contribuiu fortemente com a distribuição do invertebrado, que, hodiernamente, ocupa cerca de 5.523 municípios (TAUIL, 2001; MACIEL; JÚNIOR; MARTELLI, 2008).

3.2 Classificação do *A. aegypti*

Estima-se que a ordem Diptera, da qual o *A. aegypti* faz parte, possui cerca de 85.000 espécies, das quais 200 atuam como vetores de agentes patogênicos, tais como: vírus, bactérias, protozoários e helmintos. O gênero *Aedes* reúne aproximadamente 900 espécies, sendo 44 subgêneros, dos quais o que mais se destaca é o *Stegomyia* (ELDRIDGE; EDMAN, 2000; SANTOS, 2008).

As fêmeas apresentam um alto grau de antropofilia, isto é, possuem afinidade em relação aos organismos humanos, dos quais o material sanguíneo é sorvido. Os picos de atividade hematofágica ocorrem no período diurno. O processo de digestão acontece entre

48 a 72 horas após a alimentação. O sangue humano é essencial à produção e à deposição dos ovos, sendo que, nesta última, os mosquitos buscam por locais ou recipientes que estejam com acúmulo de água, preferencialmente, pobre em matéria orgânica. Uma vez que o espaço ideal é encontrado, os ovos são posicionados nas superfícies internas do sítio, próximo à lâmina d'água. A oviposição ocorre com maior intensidade no período noturno ou nas primeiras horas do dia (AZEVEDO, 2015).

Os ovos do *A. aegypti* medem, em média, 1 mm de comprimento, possuindo contorno alongado e fusiforme. No momento da postura, os ovos apresentam coloração esbranquiçada, que é gradativamente modificada ao longo do desenvolvimento do embrião, tornando-se negra (BRASIL, 2001).

Em circunstâncias regulares, o ciclo de vida do *A. aegypti* dura entre 15 e 30 dias, período no qual o desenvolvimento é subdividido em: ovo, larva (dividida em: L1, L2, L3 e L4), pupa e adulto (SANTOS, 2008).

Em condições hostis, a quiescência (estado de baixa atividade metabólica, no qual a maturação do embrião é interrompida) dos ovos permite com que haja manutenção do ciclo na natureza, isto é, durante variações climáticas caracterizadas pela baixa umidade, a viabilidade dos ovos pode chegar a pouco mais de um ano, até que haja um ambiente favorável à eclosão (SILVA; SILVA, 1999; ARRUDA, 2005).

3.3 Criadouros do mosquito

Tem-se ciência de que o processo de dispersão do *A. aegypti* ocorre fundamentalmente de forma passiva, isto é, pela disseminação de ovos a partir da resistência à dessecação, que resulta na aderência dos ovos a longo prazo às paredes internas de recipientes que têm a capacidade de acumular temporariamente água e que, futuramente, serão focos de reprodução e criadouros do mosquito. De maneira implícita, tal modelo de difusão mantém e amplia a presença do vetor (SOUZA-SANTOS, 1999; SANTOS, 2008; SAMPAIO, 2019).

Em um único ciclo gonadotrófico, a fêmea é capaz de realizar múltiplas ingestões de sangue, o que aumenta as possibilidades de transmissão de doenças. Ademais, a disposição dos ovos também ocorre em um mesmo ciclo, no entanto, em ambientes diferentes, nos quais a fêmea distribui os ovos em grupos segregados, aumentando o número de focos do inseto, além de dificultar as ações de controle (ZARA *et al.*, 2016; SILVA-FILHO *et al.*, 2021).

Estudos que envolvem a soltura e captura de *A. aegypti* afirmam que as fêmeas são capazes de percorrer cerca de 800 metros medidos entre o ponto de liberação e os sítios de oviposição. Na dispersão ativa, a fêmea busca sítios de oviposição e de hospedeiros como mecanismo de disseminação dos agentes causadores de doenças aos homens, isso torna-se de grande relevância como dados epidemiológicos (HONÓRIO *et al.*, 2003).

A distância média de dispersão é considerada como um importante parâmetro dentro do estudo epidemiológico, pois é a distância máxima de deslocamento que reflete na

disseminação do *A. aegypti*. Obras que tratam sobre a dispersão do mosquito concluíram que a distância percorrida pelo voo é, geralmente, abaixo de 100 metros (HARRINGTON *et al.*, 2005; SANTOS, 2008).

Portanto, existem alguns lugares de preferência, dentre os quais: habitats aquáticos instáveis, sejam eles naturais ou mesmo artificiais, cobertos por águas pluviais; ocos de árvores; folhas; garrafas; latas; pneus; vasos/pratos de plantas; calhas; ou qualquer tipo de objeto destinado ao armazenamento de água em uso doméstico, nesse caso, recobra as cisternas, caixa d'água, além de tambores, tanques, tonéis, etc. (FREITAS *et al.*, 2007; SOUSA *et al.*, 2022).

As condições climáticas (temperatura, pluviosidade, altitude) interferem no ciclo vital do *A. aegypti*, além da domiciliação, dispersão, repasto e reprodução (DONALÍSIO; GLASSER, 2002; FREITAS *et al.*, 2007).

3.4 Monitoramento do *A. aegypti* no DF

No DF, os casos de Dengue têm aumentando de forma exponencial. Até fevereiro de 2020, foram registrados cerca de sete mil casos. Dessa forma, conclui-se, logicamente, que o número de focos do mosquito aumentou drasticamente. À vista disso, evidencia-se a importância da vigilância epidemiológica no monitoramento do mosquito, visto que é um programa responsável pelo controle e redução de infecções transmitidas pelo inseto (DISTRITO FEDERAL, 2020).

3.5 Vigilância e monitoramento epidemiológico do *A. aegypti*

A vigilância e monitoramento do *A. aegypti* é iniciado a partir da coleta das larvas. A proposta é medir a densidade populacional do mosquito em áreas urbanas por vistoria de depósitos de água e outros recipientes, geralmente localizados em regiões residenciais e imóveis industriais, como borracharias e ferros-velhos, os quais são considerados regiões estratégicas na busca de criadouros, pois possuem alto potencial de oferecer ambientes propícios para criadouros de mosquitos (BRAGA; VALLE, 2007).

No Brasil, o levantamento da população de *A. aegypti* consiste na coleta de larvas e/ou pupas, que são contabilizadas e usadas como base de dados na verificação do impacto das doenças transmitidas pelo mosquito. Assim, por essas informações, praticam-se métodos de eliminação das larvas e pupas do vetor, especialmente nas regiões mais afetadas. Vale destacar que a geração de dados não deve ser fundamentada na medida abundante da população do inseto adulto, pois, dessa maneira, seria ineficaz estimar a transmissão, apesar de estar sendo usado para essa finalidade (BRASIL, 2001).

Há, também, métodos usados na coleta de mosquitos adultos, visando estimar o risco de transmissão de doenças. No entanto, tal procedimento é deveras oneroso, tanto em tempo, quanto em capital, tornando inviável essa categoria de coleta, que só é realizada em situações específicas, como mostrado em estudo com mais detalhe (ELDRIDGE;

EDMAN, 2000).

O trabalho epidemiológico do mosquito no DF é complexo, pois os dados de coleta e de densidade populacional de adultos são desconhecidos, dificultando, portanto, as políticas de controle. O comportamento do vetor também configura um dos empecilhos, dado que o hábito de repousar ocorre no interior dos imóveis, em ambientes com pouca luminosidade, inviabilizando a coleta, restando meramente a possibilidade de estimar o total de espécimes da espécie (CARVALHO *et al.*, 2004; BRAGA; VALLE, 2007).

Além dos obstáculos supracitados, há, também, a relação entre a abundância relativa de mosquitos adultos e o número de casos de transmissão, que, comumente, é desconhecido, causando, assim, imprecisão na organização dos dados. Ainda, há uma discrepância desconhecida entre a apuração de vetores coletados e no número de indivíduos que se dispõem na área de coleta, ou seja, não há como determinar a quantidade exata de mosquitos. Todavia, é possível estabelecer uma relação de quantificação que consiste no número de vetores adultos por pessoa, porém, não é um método totalmente eficiente, pois não é suficiente para quantificar o risco de transmissão (BRASIL, 2001; PINHEIRO; TADEI, 2002; OLIVEIRA, 2020).

Além da coleta de larvas, a medição da população do vetor também pode ser realizada com o auxílio de armadilhas de oviposição (ovitrapas), que simulam um ambiente favorável à disposição dos ovos. As ovitrapas são recipientes de cor preta, preenchidos com água e acompanhados por uma palheta de madeira de superfície áspera, onde os ovos ficam aderidos. Na água, colocam-se compostos larvicidas, de modo a tornar a medição mais eficiente (BESERRA *et al.*, 2010; MIYAZAKI *et al.*, 2019).

As estratégias de controle químico do mosquito empregadas pelas políticas de saúde pública do DF nos últimos anos não estão apresentando efeitos satisfatórios, pois o índice de infestação continua o mesmo. Ademais, as ações de combate não são homogêneas e apresentam pouca durabilidade, além da insuficiência de medidas educativas e ambientais direcionadas à população (FEITOSA; SOBRAL; JESUS, 2015).

“O número de casos prováveis de Dengue registrados no Brasil em janeiro deste ano foi mais que dobrou em comparação ao mesmo período de 2018”. Conforme o Ministério da Saúde, até o dia 2 de fevereiro, o aumento era de 149%, passando de 21.992 para 54.777 casos prováveis, uma incidência de 26,3 casos por 100 mil. Sabe-se que, em determinado período do ano, a ocorrência de *A. aegypti* aumenta consideravelmente, especialmente nas épocas de maior precipitação pluviométrica. Entre os meses de janeiro e fevereiro, aproximadamente 200 mil imóveis foram inspecionados no DF, com o objetivo de combater e prevenir a Dengue (BERMUDI *et al.*, 2017; DISTRITO FEDERAL, 2020).

3.6 Monitoramento do *A. aegypti* no DF

Em Brasília, o monitoramento do mosquito foi considerado como prioridade pela Secretária de Saúde do DF, que, junto ao Executivo Intersetorial de Gestão de Prevenção

e Controle da Dengue (Geiplandengue), vem promovendo ações de vigilância do inseto (FREITAS; RODRIGUES; ALMEIDA, 2011).

As ações sempre integraram o Plano de Ação, de Prevenção e Controle da Dengue, que iniciou em 2011, contando como participantes: agentes de vigilância ambiental, militares das Forças Armadas, bem como o Serviço de Limpeza Urbana (SLU), a Companhia Urbanizadora da Nova Capital do Brasil (Novacap), Agência de Fiscalização (Agefis), e a Fundação Nacional de Saúde (Funasa) (GREGÓRIO, 2018).

Subsecretaria de Vigilância à Saúde (SVS) busca a realização de cursos, palestras e treinamentos, promovendo a capacitação de profissionais das regionais de saúde e parcerias, como a Agefis, que é responsável pela fiscalização, principalmente quando se trata do monitoramento de canteiros de obras (BRASIL, 2015; ALMEIDA, 2020). “Para comunicar focos do mosquito à Vigilância Ambiental a SES disponibilizou para a população o hotsite ‘Brasília Contra o *Aedes*’. Além disso, é possível tirar dúvidas e acompanhar os casos do DF por localidade” (DISTRITO FEDERAL, 2018, p. 1).

A Secretária de Saúde ressalta que o monitoramento e combate contra o *A. aegypti* são realizados pela inspeção de prédios administrativos de órgãos públicos e de empresas privadas, além de residências e comércios. Há, ainda, a mobilização semanal de escolas da rede pública e demais órgãos, com a finalidade de fomentar a eliminação do vetor (DISTRITO FEDERAL, 2018; LIMA, 2018).

Em novembro de 2018, com apoio da Subsecretária de Vigilância à Saúde, a Secretária de Saúde do DF desenvolveu um programa de monitoramento chamado Levantamento Rápido de Índices para *A. aegypti* (LIRAA), o qual possibilita que o usuário observe a distribuição do vetor, de forma rápida e acessível (BRASIL, 2012; DISTRITO FEDERAL, 2018; CAVALCANTE, 2019; SILVA *et al.*, 2020), conforme mostrado no quadro (Quadro 1).

No quadro (Quadro 1) é apresentado os códigos referentes à classificação dos recipientes de depósitos, apresentados como grupos e subgrupos. Essa categoria de classificação determina os grupos mais expostos no DF no período entre maio de 2018 e novembro de 2019.

Grupo	Subgrupo	Tipos de recipientes/depósitos
A	A1	Armazenamento de água para consumo humano: caixa d'água elevada ligada à rede pública e/ou sistema de abastecimento particular (poços e cisternas).
	A2	Armazenamento de água para consumo humano: depósitos ao nível de solo para armazenamento doméstico: tonel, tambor, barril, tina, depósitos de barros (filtros, moringas e potes), depósitos em obras e horticultura.
B	B	Depósitos móveis: vasos/frascos com água, prato, pingadeira, recipiente de degelo de refrigeradores, bebedouros, pequenas fontes ornamentais
C	C	Depósitos fixos: calhas, ralos, sanitários (em desuso), tanques em obras/borracharias, máquinas/equipamentos em pátios, piscinas e fontes ornamentais, floreiras em cemitérios, cacos de vidros em muros
D	D1	Depósitos passíveis de remoção/proteção: pneus e outros materiais rodantes (câmara de ar e manchões).
	D2	Depósitos passíveis de remoção/proteção: lixo (recipientes plásticos e latas), sucatas em pátios, ferro-velho e entulhos.
E	E	Depósitos naturais: folhas de bromélias, ocos em árvores, buracos em rochas, restos de animais (cascas e carapaças).

Quadro 1. Classificação dos tipos de depósitos com potencial de se tornarem criadouros para a postura de ovos das fêmeas de *A. aegypti*.

Fonte: Adaptado de Rodrigues; Lima (2019, p. 254).

Nas figuras (**Figuras 1 a 4**) são mostrado detalhadamente os níveis registrados em cada mês (RODRIGUES; LIMA, 2019).

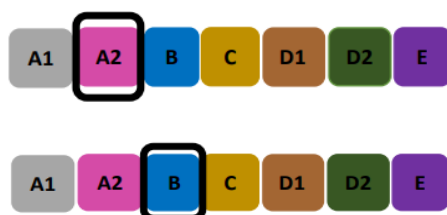


Figura 1. DPs do DF, registrados nos meses de maio e agosto de 2018, respectivamente.

Fonte: Adaptado de Distrito Federal (2018, p. 1).

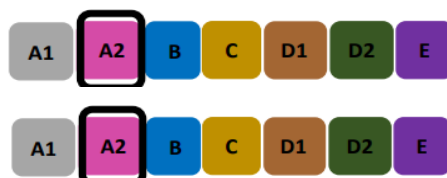


Figura 2. DPs do DF, registrados no mês de novembro de 2018 e fevereiro de 2019, respectivamente.

Fonte: Adaptado de Distrito Federal (2018, p. 1).

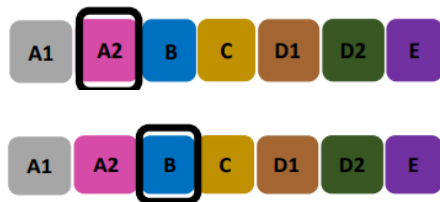


Figura 3. DPs do DF, registrados no mês de maio e agosto de 2019, respectivamente.

Fonte: Adaptado de Distrito Federal (2019, p. 1).



Figura 4. DP do DF, registrado no mês de novembro de 2019.

Fonte: Adaptado de Distrito Federal (2019, p. 1).

O monitoramento realizado pela Vigilância Entomológica do DF, apresentado seguiu um padrão, no qual a primeira etapa é iniciada com a definição do grupo e subgrupo de depósito. Dessa maneira, analisando os meses de maio, agosto e setembro de 2018, constatou-se o subgrupo A2, enquanto, no mês de agosto, verificou-se o subgrupo B. Em 2019, o subgrupo A2 foi observado nos meses de fevereiro, maio e novembro, ao passo que, em agosto, atestou-se o subgrupo B (DISTRITO FEDERAL, 2018; DISTRITO FEDERAL, 2019).

Os Índices de Infestação Predial (IIP) apresentados nas **Figuras 5 a 8** visam demonstrar quais as regiões em que os dados foram mais alarmantes nos anos de 2018 e 2019. As informações foram representadas por cores, de forma que: 1. Verde: baixo risco (satisfatório); 2. Amarelo: alerta; 3. Vermelho: alto risco (OLIVEIRA *et al.*, 2016).

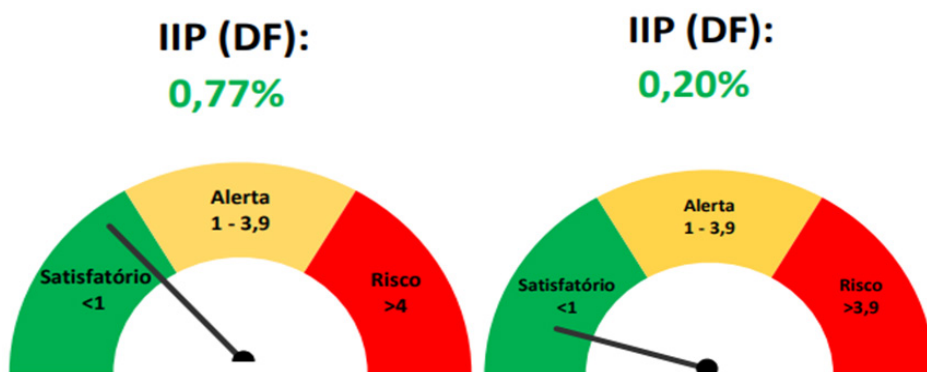
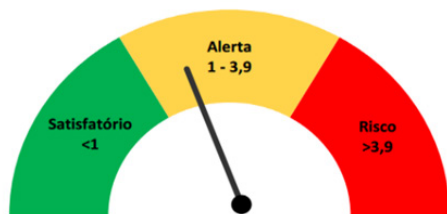


Figura 5. IIP do DF, registrados nos meses de maio e agosto de 2018, respectivamente.

Fonte: Adaptado de Distrito Federal (2018, p. 1).

IIP (DF):
1,48%



IIP (DF):
0,83%

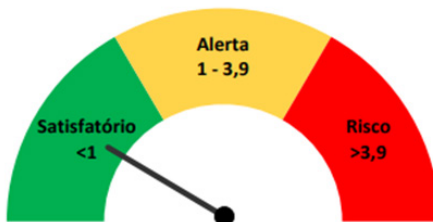


Figura 6. IIP do DF, registrados nos meses de novembro de 2018 e fevereiro de 2019, respectivamente.

Fonte: Adaptado de Distrito Federal (2018-19, pp.1).

IIP (DF):
1,45%



IIP (DF):
0,18%

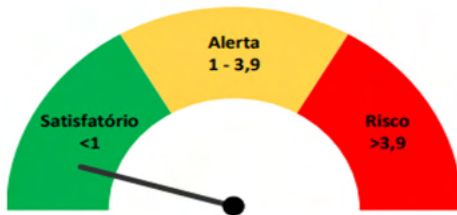


Figura 7. IIP do DF, registrado nos meses de maio e agosto de 2019, respectivamente.

Fonte: Adaptado de Distrito Federal (2019, p. 1).

IIP (DF):

0,74%

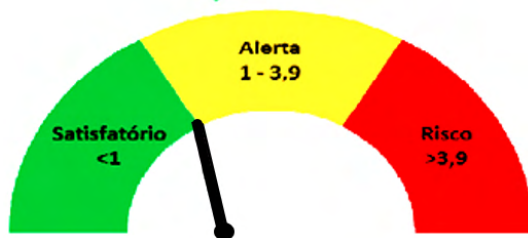


Figura 8. IIP do DF, registrado em novembro de 2019.

Fonte: Adaptado de Distrito Federal (2019, p. 1).

Analisando o IIP de 2018, percebe-se que, no mês de novembro, houve um maior número significativo de focos do mosquito, com um percentual de 1,48%. Posteriormente, em maio, registraram-se 0,77%, e em agosto, a porcentagem foi de 0,20%. No ano de

2019, em maio, o resultado foi de 1,45%; em novembro, 0,74%; e, em agosto, 0,18%. Logo, entre os meses de maio de 2018 e maio de 2019, houve um crescimento do número de focos, passando de 0,77 para 1,48%. Em contrapartida, entre os meses novembro de 2018 e novembro de 2019, houve uma queda, passando de 1,48 para 0,74% (DISTRITO FEDERAL, 2018).

Os quadros (Quadros: 2 a 8) representam, separadamente, a relação entre as Regiões Administrativas (RAs) e seus respectivos códigos de grupos e subgrupos referentes aos depósitos predominantes (DPs). Ademais, explanam, por cores e símbolos, apresentados anteriormente, os níveis de maior e menor risco de alerta no DF, por RA (DISTRITO FEDERAL, 2018; DISTRITO FEDERAL, 2019).

RA	IIP	DP	RA	IIP	DP	RA	IIP	DP
Águas Claras	0	-	Recanto das Emas	0,47	A2	Brasília	1,01	A2
Brazlândia	0,22	A2	Riacho Fundo	0,22	A2	Fercal	2,94	B
Candangolândia	0,76	A2	Riacho Fundo II	0,22	D2	Itapoã	2,06	A2
Cellândia	0,39	B	Samambaia	0,29	A2/B	Paranoá	1,24	A2
Cruzeiro	0,44	B	Santa Maria	0,28	A2	Park Way	1,83	A2
Estrutural (SCIA)	0	-	SIA	0,82	A2/B	Planaltina	1,27	A2
Gama	0,73	B	Sobradinho	0,98	C	São Sebastião	1,61	A2
Guará	0,45	B	Sudoeste/Octogonal	0	A2	Sobradinho II	1,34	A2
Jardim Botânico	0,93	A2	Taguatinga	0,44	B	Varjão	1,88	D2
Lago Sul	0,45	C/E	Vicente Pires	0,47	C	Lago Norte	5,16	A2
Núcleo Bandeirante	0,82	B/C						

Quadro 2. IIP e DP por RA, obtidos no mês de maio de 2018.

Fonte: Distrito Federal (2018).

A partir destes resultados, percebe-se que: durante o período de maio de 2018, apenas o Lago Norte foi considerado como uma área de alto risco, com um IIP de 5,16%, com um foco classificado dentro do subgrupo A2. As regiões de: Brasília, Fercal, Itapoã, Paranoá, Park Way, Planaltina, São Sebastião, Sobradinho II e Varjão, apresentaram um IIP oscilando entre 1,01 e 2,94%, além de estarem sendo consideradas localidades em estado de alerta, com focos avaliados nos subgrupos A2, D2 e B (DISTRITO FEDERAL, 2018).

RA	IIP	DP	RA	IIP	DP	RA	IIP	DP
Gama	0,00	-	Fercal	0,00	-	Lago Norte	0,46	A2/B
Brazlândia	0,00	-	Cellândia	0,02	A2	Varjão	0,47	D2
Núcleo Bandeirante	0,00	-	Samambaia	0,04	B	Jardim Botânico	0,66	A2
Guará	0,00	-	Recanto da Emas	0,05	B	Itapoã	0,69	A2
Cruzeiro	0,00	-	Planaltina	0,06	D2	Brasília	0,71	B
Santa Maria	0,00	-	Sobradinho	0,23	A2/B	Park Way	0,81	C
Candangolândia	0,00	-	Riacho Fundo	0,23	C	Lago Sul	1,13	B
Águas Claras	0,00	-	Sobradinho II	0,23	A1			
Riacho Fundo II	0,00	-	Taguatinga	0,28	B			
SCIA	0,00	-	São Sebastião	0,33	B			
SIA	0,00	-	Paranoá	0,41	A2			
Vicente Pires	0,00	-	Sudoeste/Octogonal	0,42	C			

Quadro 3. IIP e DP por RA, obtidos no mês de agosto de 2018.

Fonte: Distrito Federal (2018).

O monitoramento realizado em agosto de 2018 revelou que a região do Lago Sul apresentou um índice elevado equivalente a 1,13%, mesmo em uma época de seca, o que pode ser justificado pela localização da cidade, próxima ao Lago Paranoá. A mesma RA foi classificada no subgrupo B, além de estar em estado de alerta (DISTRITO FEDERAL, 2018).

RA	IIP	DP	RA	IIP	DP	RA	IIP	DP
Gama	0,00	-	Fercal	0,00	-	Lago Norte	0,46	A2/B
Brazlândia	0,00	-	Cellândia	0,02	A2	Varjão	0,47	D2
Núcleo Bandeirante	0,00	-	Samambaia	0,04	B	Jardim Botânico	0,66	A2
Guará	0,00	-	Recanto da Emas	0,05	B	Itapoã	0,69	A2
Cruzeiro	0,00	-	Planaltina	0,06	D2	Brasília	0,71	B
Santa Maria	0,00	-	Sobradinho	0,23	A2/B	Park Way	0,81	C
Candangolândia	0,00	-	Riacho Fundo	0,23	C	Lago Sul	1,13	B
Águas Claras	0,00	-	Sobradinho II	0,23	A1			
Riacho Fundo II	0,00	-	Taguatinga	0,28	B			
SCIA	0,00	-	São Sebastião	0,33	B			
SIA	0,00	-	Paranoá	0,41	A2			
Vicente Pires	0,00	-	Sudoeste/Octogonal	0,42	C			

Quadro 4. IIP e DP por RA, obtidos no mês de novembro de 2018.

Fonte: Distrito Federal (2018).

No quadro (Quadro 4) mostrou uma quantidade expressiva de regiões com IIPs elevados, bem como com um número considerável de RAs em estado de alerta, como: Brazlândia, Taguatinga, Núcleo Bandeirante, Candagolândia, Sudoeste/Octogonal, São Sebastião, Paranoá, Itapoã, Sobradinho, Park Way, Gama, Brasília, Varjão, Jardim Botânico e Planaltina. A oscilação dos índices variou entre 1,06 a 3,18%. Nestas regiões,

os subgrupos predominantes foram A2 e B, as áreas de alto risco foram: Sobradinho II, Lago Sul, Fercal e Lago Norte, com oscilação entre 4,55 a 8,74% (DISTRITO FEDERAL, 2018).

RAs	IIP	DP	RAs	IIP	DP	RAs	IIP	DP
Guará	0,09	B	Brasília	0,77	D2	Planaltina	1,36	D2
Santa Maria	0,10	A2	Taguatinga	0,80	A2	SCIA	1,39	A2
Vicente Pires	0,19	B	Candangolândia	0,81	A2/B	São Sebastião	1,49	A2
Recanto das Emas	0,21	A2	Núcleo Bandeirante	0,82	B	Jardim Botânico	1,50	B
Águas Claras	0,22	D1/D2	Samambaia	0,85	A2	Park Way	2,04	C
Riacho Fundo	0,22	B	Fercal	0,85	A2	Itapoã	2,54	A2
Sudoeste/Octogonal	0,44	E	SIA	0,85	C/D2	Lago Norte	3,25	B
Cruzeiro	0,44	B	Sobradinho	0,91	A2/C/D2			
Lago Sul	0,45	C	Brazlândia	0,91	A2			
Ceilândia	0,62	A2	Varjão	0,94	A2/B			
Riacho Fundo II	0,65	A2/C/ D2	Gama	1,00	A2			
Sobradinho II	0,69	B	Paranoá	1,19	A2/D1/D2			

Quadro 5. IIP e DP por RA, obtidos no mês de fevereiro de 2019.

Fonte: Distrito Federal (2019).

No mês de fevereiro de 2019, observaram que nove cidades: Gama, Paranoá, Planaltina, SCIA, São Sebastião, Jardim Botânico, Park Way, Itapoã e Lago Norte estavam em estado de alerta, com índice oscilando entre 1,00 a 3,25%, com os subgrupos A2, B, C, D1 e D2. As regiões de baixo risco: Taguatinga e Guará, mostraram oscilação entre 0,09 e 0,94%, sendo o subgrupo A2 o mais predominante (DISTRITO FEDERAL, 2019).

RAs	IIP	DP	RAs	IIP	DP	RAs	IIP	DP
Guará	0,17	A2/D1	SIA	1,36	D2	Planaltina	2,04	A2
SCIA (Estrutural)	0,31	A2/D1	Brazlândia	1,37	A2	Fercal	2,13	B
Ceilândia	0,77	A2	Taguatinga	1,37	A2	Riacho Fundo	2,32	A2
Riacho Fundo II	0,81	A2	Varjão	1,40	D2	Sobradinho II	2,51	D2
Santa Maria	0,82	A2	Vicente Pires	1,49	D2	Lago Norte	2,78	B
Cruzeiro	0,87	A2	Samambaia	1,68	A2	Sobradinho	3,59	D2
Sudoeste/Octogonal	0,89	A2/C	Núcleo Bandeirante	1,69	B	Jardim Botânico	3,87	A2
Águas Claras	0,94	D2	Candangolândia	1,70	B/D2			
Gama	1,07	A2	Park Way	1,84	D2			
Paranoá	1,12	A2	Brasília	1,86	B			
Recanto das Emas	1,22	A2	Itapoã	1,93	A2			
São Sebastião	1,35	A2/B	Lago Sul	2,04	B/D2			

Quadro 6. IIP e DP por RA, obtidos nos mês de maio de 2019.

Fonte: Distrito Federal (2019).

No mês maio de 2019, grande maioria das RAs estavam em estado de alerta. As oscilações variam entre 1,07 e 3,87%, e, novamente, A2 foi o subgrupo dominante. Somente oito regiões foram consideradas de baixo risco: Guará, SCIA, Ceilândia, Riacho Fundo II, Santa Maria, Cruzeiro, Sudoeste e Águas Claras (DISTRITO FEDERAL, 2019).

RA	IIP	DP	RA	IIP	DP	RA	IIP	DP
Guará	0,17	A2/D1	SIA	1,36	D2	Planaltina	2,04	A2
SCIA (Estrutural)	0,31	A2/D1	Brazlândia	1,37	A2	Fercal	2,13	B
Ceilândia	0,77	A2	Taguatinga	1,37	A2	Riacho Fundo	2,32	A2
Riacho Fundo II	0,81	A2	Varjão	1,40	D2	Sobradinho II	2,51	D2
Santa Maria	0,82	A2	Vicente Pires	1,49	D2	Lago Norte	2,78	B
Cruzeiro	0,87	A2	Samambaia	1,68	A2	Sobradinho	3,59	D2
Sudoeste/Octogonal	0,89	A2/C	Núcleo Bandeirante	1,69	B	Jardim Botânico	3,87	A2
Águas Claras	0,94	D2	Candangolândia	1,70	B/D2			
Gama	1,07	A2	Park Way	1,84	D2			
Paranoá	1,12	A2	Brasília	1,86	B			
Recanto das Emas	1,22	A2	Itapoã	1,93	A2			
São Sebastião	1,35	A2/B	Lago Sul	2,04	B/D2			

Quadro 7. IIP e DP por RA, obtidos no mês de agosto de 2019.

Fonte: Distrito Federal (2019).

No mês de agosto de 2019, todas as regiões, exceto Lago Sul, foram caracterizadas como áreas de baixo risco. A variação foi de 0,00 a 0,42% (a menor, em relação aos meses anteriores), e A2 e B foram os subgrupos que mais se destacaram (DISTRITO FEDERAL, 2019).

RA	IIP	DP	RA	IIP	DP	RA	IIP	DP
Gama	0,00	-	Fercal	0,00	-	Lago Norte	0,46	A2/B
Brazlândia	0,00	-	Ceilândia	0,02	A2	Varjão	0,47	D2
Núcleo Bandeirante	0,00	-	Samambaia	0,04	B	Jardim Botânico	0,66	A2
Guará	0,00	-	Recanto das Emas	0,05	B	Itapoã	0,69	A2
Cruzeiro	0,00	-	Planaltina	0,06	D2	Brasília	0,71	B
Santa Maria	0,00	-	Sobradinho	0,23	A2/B	Park Way	0,81	C
Candangolândia	0,00	-	Riacho Fundo	0,23	C	Lago Sul	1,13	B
Águas Claras	0,00	-	Sobradinho II	0,23	A1			
Riacho Fundo II	0,00	-	Taguatinga	0,28	B			
SCIA	0,00	-	São Sebastião	0,33	B			
SIA	0,00	-	Paranoá	0,41	A2			
Vicente Pires	0,00	-	Sudoeste/Octogonal	0,42	C			

Quadro 8. IIP e DP por RA, obtidos no mês de novembro de 2019.

Fonte: Distrito Federal (2019).

Assim, nos meses de agosto e novembro de 2019, as áreas de baixo risco prevaleceram, com um balanço de 0,00 a 0,59%, e somente dez regiões foram colocadas em estado de alerta. O grupo A2 foi o de maior evidência, no âmbito geral das regiões (DISTRITO FEDERAL, 2019).

De acordo com o LIRAa (2018), os meses de maio e novembro foram os mais preocupantes, nos quais houve uma gama de RAs em estado de alerta e alto risco. Em 2019, o mês de maio foi o mês mais crítico, pois maioria das áreas estava em *status* de

alerta (DISTRITO FEDERAL, 2018; DISTRITO FEDERAL, 2019).

Em prol da melhoria do sistema de saúde do DF, em 2015, foi promovido a subdivisão das RAs em Regiões de Saúde (RS): Norte, Sul, Leste, Oeste, Centro, Centro-Sul e Sudeste, como mostrado no quadro (Quadro 9) (DISTRITO FEDERAL, 2019).

Região de Saúde	RAs
Central	Asa Norte, Lago Norte e Sul, Cruzeiro, Sudoeste/Octogonal, Varjão e Asa Sul
Centro Sul	Núcleo Bandeirante, Riacho Fundo I e II, Park Way, Candangolândia, Guará, S.I.A. e SCIA (Estrutural)
Leste	Itapoã, Paranoá, Jardim Botânico e São Sebastião
Norte	Planaltina, Sobradinho, Sobradinho II e Fercal
Oeste	Brazlândia e Ceilândia
Sudeste	Taguatinga, Vicente Pires, Águas Claras, Samambaia e Recanto das Emas
Sul	Gama e Santa Maria

Quadro 9. Distribuição de Regiões de Saúde, entre Cidades Administrativas do Distrito Federal, no ano de 2019.

Fonte: Distrito Federal (2019).

Para explanar o nível de eficiência das RSs, no combate às doenças transmitidas pelo *A. aegypti*, a sequência de quadros (Quadros 10 a 14) representam o IIP e o DP por região (DISTRITO FEDERAL, 2018; DISTRITO FEDERAL, 2019).

Região de Saúde	IIP	DP	Região de Saúde	IIP	DP
Centro Sul	0,61	A2	Central	1,52	A2
Sul	0,51	A2	Norte	1,32	A2
Oeste	0,38	A2	Leste	1,59	A2
Sudoeste	0,35	A2			

Quadro 10. Distribuição das IIPs e DPs, nas RSs do DF, mês de maio de 2018.

Fonte: Distrito Federal (2018).

No mês maio de 2018, a RS Leste, que comporta as áreas: Itapoã, Paranoá, Jardim Botânico e São Sebastião, foi a que mais se destacou em maior número de casos, com um índice de 1,59%, em estado de alerta e classificação A2 (DISTRITO FEDERAL, 2018).

Região de Saúde	IIP	DP	Região de Saúde	IIP	DP
Central	0,66	B	Oeste	0,04	A2/B
Centro Sul	0,09	A2	Sudoeste	0,09	A2
Leste	0,28	A2	Sul	0,00	-
Norte	0,46	B			

Quadro 11. Distribuição das IIPs e DPs, das RSs do DF, mês de agosto de 2018.

Fonte: Distrito Federal (2018).

No mês de agosto de 2018, todas as regiões estavam em situação de baixo risco, com um balanceamento entre 0,00 e 0,66%, sendo o subgrupo A2 o que mais se destacou (DISTRITO FEDERAL, 2018).

Região de Saúde	IIP	DP	Região de Saúde	IIP	DP
Sudoeste	0,49	A2	Sul	1,24	A2
Oeste	0,68	A2	Leste	2,08	A2
Centro Sul	0,88	A2/B	Norte	3,25	D2
			Central	3,69	B

Quadro 12. Distribuição das IIPs e DPs, nas RSs do DF, mês de novembro de 2018.

Fonte: Distrito Federal (2018).

No mês de novembro de 2018, quatro RSs: Sul, Leste, Norte e Central estavam em estado de alerta, com uma oscilação entre 1,24 a 3,69%. As áreas Sudoeste, Leste e Centro-Sul foram consideradas de baixo risco, com IIP máximo de 0,88%, e o grupo A2 foi dominante em todas as regiões (DISTRITO FEDERAL, 2018).

Região de Saúde	IIP	DP	Região de Saúde	IIP	DP
Central	0,66	B	Oeste	0,04	A2/B
Centro Sul	0,09	A2	Sudoeste	0,09	A2
Leste	0,28	A2	Sul	0,00	-
Norte	0,46	B			

Quadro 13. Distribuição das IIPs e DPs, nas RSs do DF, mês de fevereiro de 2019.

Fonte: Distrito Federal (2019).

No mês de fevereiro de 2019, a maioria das RSs estavam em situação de baixo risco, com IIP máximo de 0,75%. As áreas Central, Norte e Leste apresentaram estado de alerta, com IIP máximo de 1,81% (DISTRITO FEDERAL, 2019).

Região de Saúde	IIP	DP	Região de Saúde	IIP	DP
Oeste	0,83	A2	Sudoeste	1,39	A2
Sul	0,95	A2	Central	1,84	B
Centro Sul	0,98	A2/B	Leste	2,04	A2
			Norte	2,55	A2

Quadro 14. Distribuição das IIPs e DPs, nas RSs do DF, mês de maio de 2019.

Fonte: Distrito Federal (2019).

Em mês maio de 2019, as RSs Sudoeste, Central, Leste e Norte mostraram uma variação de IIP de 1,39 a 2,55%, tendo como subgrupo A2 e B, no estado de alerta. Apenas três regiões foram classificadas como de baixo risco, com IIP máximo de 0,98%, como mostrado nos quadros (Quadros 15 e 16) (DISTRITO FEDERAL, 2019).

Região de Saúde	IIP	DP	Região de Saúde	IIP	DP
Sul	0,00	-	Centro Sul	0,15	C
Oeste	0,02	A2	Leste	0,52	A2
Sudoeste	0,08	B	Central	0,64	B
Norte	0,12	A1/A2/B/D2			

Quadro 15. Distribuição das IIPs e DPs, nas RSs do DF, mês de agosto de 2019.

Fonte: Distrito Federal (2019).

No mês de agosto de 2019, todas as regiões exibiram situação de baixo risco, com IIP máximo de 0,64% (DISTRITO FEDERAL, 2019).

Região de Saúde	IIP	DP	Região de Saúde	IIP	DP
Oeste	0,34	B	Sudoeste	0,53	B
Sul	0,53	B	Central	0,81	B
Centro Sul	0,59	A2/B	Leste	1,28	A2
			Norte	1,63	A2

Quadro 16. Distribuição das IIPs e DPs, nas RSs do DF, mês de novembro de 2019.

Fonte: Distrito Federal (2019).

Assim, de acordo com o monitoramento dos focos de reprodução do mosquito ocorrido durante o mês de novembro de 2019, as regiões Leste e Norte se destacaram, apresentando índices de 0,00 a 0,64%, classificadas dentro do subgrupo A2, e estavam em

estado de alerta (DISTRITO FEDERAL, 2019).

Os dados abordados são de extrema importância fundamental para o direcionamento de políticas de saúde pública voltadas ao combate ao *A. aegypti*, pois, uma vez que a distribuição e a concentração do mosquito são compreendidas, há, conseqüentemente, uma maior possibilidade de que as técnicas de controle do vetor gerem bons resultados. Além da esfera pública, os dados, em conjunto com campanhas sanitárias educacionais, acabam mobilizando a população em prol da destruição e/ou tratamento adequado de potenciais criadouros, especialmente nas regiões em que há maior incidência de doenças transmitidas pelo mosquito (ROSSI; ROSSI, 2011).

4 | EFICÁCIA DO COMBATE AO *A. AEGYPTI*

4.1 Plano de ação no combate ao *A. aegypti*

Entre os meses de janeiro e fevereiro de 2019, cerca de 200 mil imóveis foram inspecionados no DF, com vistas à eliminação de criadouros do mosquito. Nesse sentido, torna-se necessário avaliar o nível de eficácia dos métodos utilizados contra o inseto, evidenciando as suas vantagens e desvantagens (VALLE; PIMENTA; CUNHA, 2015; DISTRITO FEDERAL, 2019).

No dia 30 de outubro de 2019, os representantes governamentais do DF em parceria com a Secretaria de Saúde, anunciaram uma força tarefa com o objetivo de reduzir o número de casos de Dengue, Chikungunya, Zika e febre amarela urbana. A reunião foi realizada no auditório da Academia dos Bombeiros, com a presença de administradores regionais e secretários (DISTRITO FEDERAL, 2019).

O plano de ação desenvolvido pelo governo estabeleceu um compromisso com a comunidade do DF em prol da preservação da saúde e dignidade de sobrevivência humana. Dessa forma, as campanhas circularam em espaços públicos: escolas, hospitais, postos de saúde, etc., e veículos de comunicação: televisão, rádio, internet, jornais, etc., e a população foi orientada a praticar medidas básicas de controle do *A. aegypti*, como: remanejamento de potenciais criadouros, o tratamento e a destinação adequados de resíduos sólidos, remoção de água acumulada em recipientes, calhas, caixas d'água, entre outros (OLIVEIRA; ARAUJO; SAITO, 2018).

De acordo com o plano de enfrentamento, uma das metas é, entre os anos de 2020 e 2023, reduzir o tempo de resposta do mosquito contra as técnicas convencionalmente utilizadas, como a aplicação de inseticidas, visto que uma série de estudos relatam que populações adquirem resistência aos compostos químicos (GUIRADO; BICUDO, 2009; CARVALHO, 2018).

O objetivo do plano foi nivelar todos os profissionais em um padrão multidisciplinar, de forma que projetos sejam elaborados e discutidos por indivíduos qualificados acerca

de como prevenir e agir em uma possível epidemia causada por qualquer das arboviroses mencionadas. Para tal, os preparos teórico e prático são imprescindíveis, ainda mais quando se trata de um plano executado em uma unidade federativa que possui todos os insumos básicos de controle do mosquito (DISTRITO FEDERAL, 2019; CHAVES; EVANGELISTA; FERNANDES, 2020).

O aumento do contingente de colaboradores e veículos foi essencial para a execução do plano. Nesse âmbito, dobrou-se a quantidade de fumacês de 40 para 80 veículos; contratou-se mais 200 agentes de vigilância sanitária, com reforço de motocicletas que realizam a pulverização de Ultraabaixo Volume (UBV), além do apoio de 1,5 mil agentes do Corpo de Bombeiros (FRIEDRICH *et al.*, 2018; DISTRITO FEDERAL, 2019).

O plano de ação engloba cinco eixos temáticos fundamentais no combate ao *A. aegypti*: 1. Coordenação; 2. Assistência; 3. Vigilância; 4. Apoio logístico; 5. Mobilização; 6. Comunicação; e 7. Educação em saúde. Cada um desses pilares deve ser seguido por todas as RAs, para que as metas sejam atingidas com êxito em toda a região do DF (SILVA; JORGE; JÚNIOR, 2015; DISTRITO FEDERAL, 2019).

4.2 Eficácia do combate ao *A. aegypti*

A quantidade de DPs nas RAs que apresentam estado de alerta e áreas de alto risco é essencial para o planejamento de práticas de combate ao inseto, visto que, além de comportar focos, as regiões sanitariamente comprometidas contribuem para a migração do mosquito em direção às demais localidades, comprometendo a saúde de indivíduos que, eventualmente, tomam medidas de prevenção contra o mosquito (HIRAGI *et al.*, 2009).

O levantamento de imóveis é uma parte relevante para o rápido alcance do resultado. Por amostragem, a quantidade de residências com recipientes contendo larvas de *A. aegypti* proporcionou conhecer os tipos de depósitos e as várias possibilidades de criadouros do mosquito, configurando uma importante fonte de informação para a mobilização social, permitindo um olhar direcionado para os problemas identificados em cada área (SILVA, 2013).

4.3 Vantagens e desvantagens dos métodos de combate ao *A. aegypti*

Uma das vantagens do processo controle do *A. aegypti* é a maneira com o governo busca transmitir informações relevantes à população por meio do LIRAA, um sistema de dados de rápido e fácil acesso. Ademais, os servidores que inspecionam as residências e demais locais de possível infestação, juntamente ao auxílio dos veículos difusores de inseticidas, desempenham um papel importante na redução da proliferação do vetor (DISTRITO FEDERAL, 2019; SILVA, 2020).

A busca por apoio de várias equipes e órgãos do GDF, com o propósito de combater a doença também são fundamentais para minimizar a incidência de casos de infecção por arboviroses. Ainda, hodiernamente, as mídias sociais são ferramentas altamente eficientes

para a disseminação de informações educativas voltadas ao público de todas as idades, especialmente os mais jovens (OLIVEIRA; ARAUJO; SAITO, 2018; DISTRITO FEDERAL, 2019).

A maior desvantagem está relacionada ao alcance limitado das políticas de saúde pública em relação às comunidades marginalizadas, desfavorecidas socialmente e economicamente, e que, portanto, não possuem a menor possibilidade de acesso ao ambiente educacional e às tecnologias disponíveis, facilitando a propagação de vetores e doenças, pois a aplicação de medidas de prevenção e tratamento é escassa ou nula (SEGATA, 2017).

5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados aqui apresentados são imprescindíveis à construção de projetos e à execução de políticas públicas mais promissoras contra o *A. aegypti* no DF, como a disponibilidade de informações acerca da distribuição do mosquito entre as RAs tratadas favorece, especialmente, as regiões em estado de alerta ou de alto risco, as quais são mais suscetíveis a um nível elevado de transmissibilidade de arboviroses, sobretudo a Dengue, sendo áreas que requerem maior atenção.

DF é uma região com excelente potencial de combate ao mosquito, devido as técnicas tradicionais de controle mecânico e químico, sendo este último o mais debatido nos últimos anos dentro da temática, visto que o uso intensivo de inseticidas sintéticos acarreta o surgimento de populações invulneráveis do *A. aegypti*, tornando a problemática sanitária ainda mais complexa. Estudos recentes têm abordado a possibilidade de uso de insumos naturais na produção de inseticidas potencialmente mais sustentáveis e eficazes em relação aos anteriores.

A veiculação de campanhas educativas de combate às doenças transmitidas pelo culicídeo é indispensável, em espaços públicos, como escolas, que detêm grande parcela da população de crianças e adolescentes em processo de aprendizagem. A orientação das comunidades do DF, juntamente à aplicação direcionada promovida pelas decisões governamentais, compõe um cenário sanitário bastante promissor.

DF segue com instabilidades no que tange a proliferação do vetor. Assim, as medidas já adotadas devem ser aprimoradas, ao mesmo tempo que técnicas inovadoras têm de ser estudadas e colocadas à prova, visando reduzir o número de infecções e óbitos causados pelas doenças transmitidas pelo *A. aegypti*.

REFERÊNCIAS

- ACIOLE, S. D. G. **Avaliação da atividade inseticida dos óleos essenciais das plantas amazônicas Annonaceae, Boraginaceae e de Mata Atlântica Myrtaceae como alternativa de controle às larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae).** 2009. 85 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Ambiente) - Universidade de Lisboa, Lisboa, 2009.
- ALMEIDA, L. B. V. **Perfil epidemiológico da Dengue no Distrito Federal de 2009 a 2019.** 2020. 70 f. Monografia (Graduação em Medicina) - Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2020.
- ARRUDA, E. A. P. **Fecundidade, fertilidade e quiescência dos ovos de *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae) em resposta a variações de temperatura e umidade.** 2005. 50 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2005.
- AZEVEDO, J. B. **Análise do ciclo biológico do *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) exposto a cenários de mudanças climáticas previstas pelo IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change).** 2015. 53 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2015.
- BERMUDI, P. M. M.; KOWALSKI, F.; MENZATO, M. M.; FERREIRA, M. C.; PASSOS, W. B. S.; OKU, V. J. A.; KUMOW, A.; LUCIO, T. V. F. M.; LIMA-CAMARA, T. N.; URBINATTI, P. R.; NETO, F. C. Criadouro de *Aedes aegypti* em reservatório subterrâneo de água da chuva: um alerta. **Rev. de Saúde Pública**, São Paulo, v. 51, n. 122, p. 1-5, 2017.
- BESERRA, E. B.; FERNANDES, C. R. M.; SOUSA, J. T. S.; FREITAS, E. M.; SANTOS, K. D. Efeito da qualidade da água no ciclo de vida e na atração para oviposição de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Rev. Neotropical Entomology**, Paraná, v. 39, n. 6, p. 1016-1023, 2010.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Rev. Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 113-118, 2007.
- BRASIL. Fundação Nacional da Saúde (Funasa). Dengue: instruções para pessoal de combate ao vetor. Brasília, 2001. 84 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Levantamento rápido de índices para *Aedes aegypti* - LIRAA para vigilância entomológica do *Aedes aegypti* no Brasil: metodologia para avaliação dos índices de Breteau e Predial e tipo de recipientes.** Brasília, 2012. 84 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Ministério da Saúde alerta para aumento de 149% dos casos de Dengue no país.** Brasília, 2019. 5 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Prevenção e resposta à introdução do vírus Chikungunya no Brasil.** Brasília, 2014. 100 p.
- BRASIL. Secretaria de Estado da Saúde. **Guia de orientação para treinamento de técnicos de Laboratório de Entomologia.** Santa Catarina, 2015. 73 p.
- CARVALHO, B. L. **Análise do perfil de suscetibilidade de seis populações de *Aedes aegypti* do Distrito Federal ao análogo de hormônio juvenil Pyriproxyfen.** 2018. 141 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) - Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

- CARVALHO, M. S. L.; CALDAS, E. D.; DEGALLIER, N.; VILARINHOS, P. T. R.; SOUZA, L. C. K. R.; YOSHIZAWA, M. A. C.; KNOX, M. B.; OLIVEIRA, C. Suscetibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal. **Rev. de Saúde Pública**, São Paulo, v. 38, n. 5, p. 623-629, 2004.
- CATÃO, R. C.; GUIMARÃES, R. F.; JÚNIOR, O. A. C.; GOMES, R. A. T. Análise da distribuição do Dengue no Distrito Federal. **Rev. Espaço & Geografia**, Brasília, v. 12, n. 1, p. 81-103, 2009.
- CAVALCANTE, A. C. P. **Levantamento rápido de índices para *Aedes aegypti* (LIRAA): identificação de áreas de risco e mensuração de impactos de intervenções educativas**. 2019. 72 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2019.
- CHAVES, M. O.; EVANGELISTA, M. S. N.; FERNANDES, F. M. C. Educação em saúde sobre o *Aedes aegypti*: relato de experiência. **Rev. Brasileira de Enfermagem**, Brasília, v. 73, n. 3, p. 1-6, 2020.
- COSTA, Z. G. A.; ROMANO, A. P. M.; ELKHOURY, A. N. M.; FLANNERY, B. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. **Rev. Pan-Amazônica de Saúde**, Pará, v. 2, n. 1, p. 11-26, 2011.
- DISTRITO FEDERAL. Secretaria de Saúde do Distrito Federal. **Resumo da Situação Entomológica do Distrito Federal - *Aedes aegypti* LIRAA - maio/2018**. Brasília, 2018. 18 p.
- DISTRITO FEDERAL. Secretaria de Saúde do Distrito Federal. **Resumo da Situação Entomológica do Distrito Federal - *Aedes aegypti* LIRAA - agosto/2018**. Brasília, 2018. 18 p.
- DISTRITO FEDERAL. Secretaria de Saúde do Distrito Federal. **Resumo da Situação Entomológica do Distrito Federal - *Aedes aegypti* LIRAA - novembro/2018**. Brasília, 2018. 18 p.
- DISTRITO FEDERAL. Secretaria de Saúde do Distrito Federal. **Resumo da Situação Entomológica do Distrito Federal - *Aedes aegypti* LIRAA - fevereiro/2019**. Brasília, 2019. 18 p.
- DISTRITO FEDERAL. Secretaria de Saúde do Distrito Federal. **Resumo da Situação Entomológica do Distrito Federal - *Aedes aegypti* LIRAA - maio/2019**. Brasília, 2019. 18 p.
- DISTRITO FEDERAL. Secretaria de Saúde do Distrito Federal. **Resumo da Situação Entomológica do Distrito Federal - *Aedes aegypti* LIRAA - agosto/2019**. Brasília, 2019. 18 p.
- DISTRITO FEDERAL. Secretaria de Saúde do Distrito Federal. **Resumo da Situação Entomológica do Distrito Federal - *Aedes aegypti* LIRAA - novembro/2019**. Brasília, 2019. 18 p.
- DONALÍSIO, M. R.; GLASSER, C. M. Vigilância entomológica e controle de vetores do Dengue. **Rev. Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 5, n. 3, p. 259-272, 2002.
- ELDRIDGE, B. F.; EDMAN, J. D. **Medical Entomology**. 1º Ed. Estados Unidos: Editora Springer, 2000.
- FEITOSA, F. R. S.; SOBRAL, I. S.; JESUS, E. N. Indicadores socioambientais como subsídio à prevenção e controle da Dengue. **Rev. Eletrônica em Gestão**, Educação e Tecnologia Ambiental, Santa Maria, v. 19, n. 3, p. 351-368, 2015.
- FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. 1º Ed. Brasil: Editora da Universidade de São Paulo (EDUSP), 2002.

FREITAS, R. M.; MARQUES, W. A.; PERES, R. C.; CUNHA, S. P.; OLIVEIRA, R. L. Variation in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) container productivity in a slum and a suburban district of Rio de Janeiro during dry and wet seasons. **Rev. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, n. 4, p. 489-496, 2007.

FREITAS, R. M.; RODRIGUES, C. S.; ALMEIDA, M. C. M. Estratégia Intersetorial para o controle da Dengue em Belo Horizonte (Minas Gerais), Brasil. **Rev. Saúde e Sociedade**, São Paulo, v. 20, n. 3, p. 773-785, 2011.

FRIEDRICH, K.; ALMEIDA, V. E. S.; AUGUSTO, L. G. S.; GURGEL, A. M.; SOUZA, M. M. O.; ALEXANDRE, V. P.; CARNEIRO, F. F. Agrotóxicos: mais venenos em tempos de retrocessos de direitos. **Rev. OKARA: Geografia em debate**, João Pessoa, v. 12, n. 2, p. 326-347, 2018.

GETIS, A.; MORRISON, A. C.; GRAY, K.; SCOTT, T. W. Characteristics of the Spatial Pattern of the Dengue Vector, *Aedes aegypti*, in Iquitos, Peru. **Rev. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Estados Unidos, v. 69, p. 494-505, 2008.

GLASSER, C. M.; GOMES, A. C. Clima e sobreposição da distribuição de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* na infestação do Estado de São Paulo. **Rev. de Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, n. 2, p. 166-172, 2002.

GREGÓRIO, L. S. **Relações entre a dinâmica espaço-temporal da Dengue e os padrões urbanos no Distrito Federal, Brasil**. 252 f. Tese (Doutorado em Geografia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

GUIRADO, M. M.; BICUDO, H. E. M. C. Alguns aspectos do controle populacional e da resistência a inseticidas em *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Rev. Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v. 6, n. 64, p. 5-14, 2009.

HARRINGTON, L. C.; SCOTT, T. W.; LERDTHUSNEE, K.; COLEMAN, R. C.; COSTERO, A.; CLARK, G. G.; JONES, J. J.; KITTHAWEE, S.; KITTAYAPONG, P.; SITHIPRASASNA, R.; EDMAN, J. D. Dispersal of the dengue vector *Aedes aegypti* within and between rural communities. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 72, n. 2, p. 209-220, 2005.

HIRAGI, C.; SIMÕES, K.; MARTINS, E.; QUEIROZ, P.; LIMA, L.; MONNERAT, R. Variabilidade Genética em populações de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) utilizando marcadores de RAPD. **Rev. Neotropical Entomology**, Paraná, v. 38, n. 4, p. 542-547, 2009.

HONÓRIO, N. A.; SILVA, W. C.; LEITE, P. J.; GONÇALVES, J. M.; LOUNIBOS, L. P.; OLIVEIRA, R. L. Dispersal of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in an urban endemic Dengue area in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Rev. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98, n. 2, p. 191-198, 2003.

LIMA, D. F. **Plataforma Aedesmaps: uma proposta para o controle de doenças transmitidas pelo mosquito *Aedes aegypti***. 2018. 76 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

MACIEL, I. J.; JÚNIOR, J. B. S.; MARTELLI, C. M. T. Epidemiologia e desafios no controle do Dengue. **Rev. de Patologia Tropical**, Goiás, v. 37, n. 2, p. 111-130, 2008.

MIYAZAKI, R. D.; RIBEIRO, A. L. M.; PIGNATTI, M. G.; JÚNIOR, J. H. C.; PIGNATI, M. Monitoramento do mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), por meio de ovitrampas no Campus da Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, Estado de Mato Grosso. **Rev. da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 42, n. 4, p. 392-397, 2009.

NATAL, D. Bioecologia do *Aedes aegypti*. **Rev. O Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 205-207, 2002.

OLIVEIRA, F. L. B.; MILLIONS, R. M.; JUNIOR, J. J. A.; OLIVEIRA, F. L. B. Índices de infestação predial do *Aedes aegypti* por ciclo em Santa Cruz, Rio Grande do Norte, Brasil - 2007 a 2013. **Rev. Eletrônica Gestão & Saúde**, Brasília, v. 7, n. 1, p. 260-269, 2016.

OLIVEIRA, K. C. **Estudo da diversidade urbana e periurbana de mosquitos (Diptera: Culicidae) no Distrito Federal**. 2020. 214 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) - Universidade de Brasília, Brasília, 2020.

OLIVEIRA, L. M.; ARAUJO, A. S. R.; SAITO, C. H. Educação ambiental crítico-emancipadora e a compreensão da campanha contra o mosquito *Aedes aegypti* no Brasil. **Journal of Social, Technological and Environmental Science**, Goiás, v. 7, n. 2, p. 82-107, 2018.

OLIVEIRA, T. E. S. **Condições microclimáticas e a proliferação de vetores da dengue e febre amarela em uma escola de Cuiabá - MT**. 2013. 48 f. Dissertação (Mestrado em Física Ambiental) - Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2013.

PINHEIRO, V. C. S.; TADEI, W. P. Frequency, diversity, and productivity study on the *Aedes aegypti* most preferred containers in the city of Manaus, Amazonas, Brazil. **Rev. do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 44, n. 5, p. 245-250, 2002.

RODRIGUES, E. A. S.; LIMA, S. C. Associação entre a incidência do levantamento de índice rápido de *Aedes aegypti* (LIRAA) e as condições climáticas em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, entre 2014 a 2016. **Rev. Caminhos de Geografia**, Uberlândia, v. 20, n. 72, p. 251-263, 2019.

ROSSI, C. F. F.; ROSSI, T. M. F. **Representações sociais, educação e prevenção de doenças em políticas públicas de saúde**. X Congresso Nacional de Educação, 2011, Curitiba, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, 2011. 11 p.

SAMPAIO, M. H. S. **Efeito larvicida da própolis em *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae)**. 2019. 23 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 2019.

SOUSA, L. S.; CRUZ, A. C. R.; MAGIOLE, B. R.; RESENDE, M. M. G.; MACHADO, E. R. Efetividade da atividade larvicida de óleos essenciais frente ao *Aedes aegypti*. In: SILVA, C. D. D.; FERREIRA, H. R. P. **Entomologia: diversidade e evolução dos insetos**. Paraná: Atena, 2022. p. 14-41.

SANTOS, M. A. V. M. ***Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): estudos populacionais e estratégias integradas para controle vetorial em municípios da Região metropolitana do Recife, no período de 2001 a 2007**. 2008. 220 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2008.

SEGATA, J. O *Aedes aegypti* e o digital. **Rev. Horizontes Antropológicos**, Porto Alegre, v. 23, n. 48, p. 19-48, 2017.

- SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G. Influência do período de quiescência dos ovos sobre o ciclo de vida de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. **Rev. da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 32, n. 4, p. 349-355, 1999.
- SILVA, L. R. G.; SANTOS, F. L. P. Predição numérica do controle mecânico na dinâmica populacional dos mosquitos da Dengue. **Rev. Brasileira de Biomedicina**, Lavras, v. 36, n. 2, p. 316-335, 2018.
- SILVA, M. B. A.; ALMEIDA, L. A. N.; NUNES, N. P. S.; FERREIRA, G. M. O. G.; QUININO, L. G. M. LOPES, K. A. M.; BRITO, M. I. B. S. Utilização do levantamento rápido de índice para *Aedes aegypti* (LIRAA) como ferramenta de vigilância à introdução do vírus Chikungunya em Recife. **Rev. Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v. 3, n. 1, p. 936-954, 2020.
- SILVA, M. M. **Rastreamento do foco do *Aedes aegypti* utilizando processamento de imagens e sistema de informações geográficas no Distrito Federal**. 2013. 157 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.
- SILVA, R. M.; JORGE, M. S. B.; JÚNIOR, A. G. S. **Planejamento, gestão e avaliação nas práticas de saúde**. 1º Ed. Fortaleza: Editora da Universidade Estadual do Ceará, 2015.
- SILVA, V. C.; SCHERER, P. O.; FALCÃO, S. S.; ALENCAR, J.; CUNHA, S. P.; RODRIGUES, I. M.; PINHEIRO, N. L. Diversidade de criadouros e tipos de imóveis frequentados por *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti*. **Rev. de Saúde Pública**, São Paulo, v. 40, n. 6, p. 1106 -1111, 2006.
- SILVA-FILHO, E. S.; ARAÚJO-PIOVEZAN, T. G.; DANTAS, J. O.; SILVESTRE, M. J.; ALVES, A. E. O.; RIBEIRO, G. T. Controle de larvas de *Aedes aegypti* por ninfas de libélula (Odonata) sob condições laboratoriais. **Rev. Ensaios e Ciência**, Sergipe, v. 25, n. 2, p. 239-242, 2021.
- SOUZA-SANTOS, R. Fatores associados à ocorrência de formas imaturas de *Aedes aegypti* na Ilha do Governador, Rio de Janeiro, Brasil. **Rev. da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 32, n. 4, p. 373-382, 1999.
- TAUIL, P. L. Urbanização e ecologia do Dengue. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.17 (Suplemento), p. 99-102, 2001.
- VALLE, D.; PIMENTA, D. N.; CUNHA, R. V. **Dengue: teorias e práticas**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2015.
- VAREJÃO, J. B. M.; SANTOS, C. B.; REZENDE, H. R.; BEVILACQUA, L. C.; FALQUETO, A. Criadouros de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762) em bromélias nativas na cidade de Vitória, ES. **Rev. da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 38, n. 3, p. 238-240, 2005.
- VELÁSQUEZ, C. M. R. V.; CODEÇO, C. T.; HONÓRIO, N. A.; SABROZA, P. S.; MORESCO, M.; CUNHA, I. C. L.; LEVINO, A.; TOLEDO, L. M.; LUZ, S. L. B. Distribution of Dengue vectors in neighborhoods with different urbanization types of Manaus, state of Amazonas, Brazil. **Rev. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, n. 5, p. 617-623, 2007.
- ZARA, A. L. S. A.; SANTOS, S. M.; FERNANDES-OLIVEIRA, E. S.; CARVALHO, R. G.; COELHO, G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Rev. de Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Goiânia, v. 25, n. 2, p. 391-404, 2016.

DETECÇÃO VIRAL AMBIENTAL EM ÁGUAS NO BRASIL: REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA

Data de aceite: 01/08/2022

Andrea Carvalho da Cruz

Biomédica e acadêmica do curso de pós-graduação em Microbiologia com ênfase em bacteriologia clínica e ambiental da Faculdade Metropolitana da Amazônia

Sylvia de Fátima dos Santos Guerra

Farmacêutica, Doutora, Professora orientadora do curso de pós-graduação da Faculdade Metropolitana da Amazônia

RESUMO: A água é um elemento vital não só à natureza, mas em todas as atividades desenvolvidas pelo homem. Considerando o impacto que a água não tratada representa para a saúde pública, sendo ela um veículo de transmissão de doenças, torna-se de fundamental importância à investigação desses agentes virais, permitindo avaliar tanto a qualidade da água bem como as cepas circulantes dos vírus de disseminação entérica. Desta forma, este artigo objetivou identificar os tipos de vírus encontrados em análises de água ambiental de diferentes localidades do Brasil, realizando uma revisão sistemática descritiva da literatura. Foram incluídos no estudo artigos publicados entre os anos 2007 e 2017, nos idiomas português e inglês, disponíveis nas bases de dados SciELO, MEDLINE, LILACS, BVS – BIREME e PUBMED e obtidos empregando o descritor “viral detection in water samples”. Foram encontrados 2.105 artigos, dos quais 17 foram selecionados para o estudo e após análise obteve-se 10 tipos virais

(Adenovírus, Astrovírus, Enterovírus, Norovírus, Polyomavírus Rotavírus, Sapovírus, Torque teno vírus, Vírus Gemicircular e Vírus da hepatite A) em diferentes matrizes de água (água do mar, fontes de água potável, água superficial [lagoa e lagoa salobre], águas residuais urbanas e tratados de esgoto). O adenovírus foi abordado em 27% (9/17) dos artigos científicos, seguido do rotavírus em 24% (8/17) e norovírus com 18% (6/17) das publicações. Os métodos quantitativos de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) fazem a detecção dos vírus, com resultados fidedignos. As publicações acerca do tema refletem que à falta de informação sobre vírus entéricos, onde eles representam uma ameaça para a saúde humana.

PALAVRAS-CHAVE: Gastroenterites, Água ambiental, Vírus na água.

ENVIRONMENTAL VIRAL DETECTION IN WATERS IN BRAZIL: SYSTEMATIC LITERATURE REVIEW

ABSTRACT: Water is a vital element not only to nature, but to all activities developed by man. Considering the impact that untreated water represents for public health, being a vehicle for the transmission of diseases, it is of fundamental importance to investigate these viral agents, allowing to evaluate both the quality of the water as well as the circulating strains of the virus. enteric dissemination. In this way, this article aimed to identify the types of viruses found in environmental water analyzes from different Brazilian locations, performing a descriptive systematic review of the literature. The study

included articles published between 2007 and 2017, in the Portuguese and English languages, available in the SciELO, MEDLINE, LILACS, BVS - BIREME and PUBMED databases and obtained using the descriptor "viral detection in water samples". A total of 2,105 articles were found, of which 17 were selected for the study and 10 virus types (Adenovirus, Astrovirus, Enterovirus, Norovirus, Polyomavirus Rotavirus, Sapovirus, Torque teno virus, Gemicircular virus and Hepatitis A virus) were found in different water sources (sea water, sources of drinking water, surface water [lagoon and brackish lagoon], urban waste water and sewage treatment). Adenovirus was approached in 27% (9/17) of the scientific articles, followed by rotavirus in 24% (8/17) and norovirus with 18% (6/17) of the publications. Quantitative PCR (Polymerase Chain Reaction) methods detect viruses with reliable results. The publications on the subject reflect the lack of information on enteric viruses where they pose a threat to human health.

KEYWORDS: Gastroenteritis, Environmental water, Virus in water.

1 | INTRODUÇÃO

A água é um elemento vital não só à natureza, mas em todas as atividades desenvolvidas pelo homem. Apesar de todos os esforços para diminuir o seu desperdício, a água está se tornando cada vez mais um bem escasso, e sua qualidade é uma preocupação crescente, principalmente em países desenvolvidos e subdesenvolvidos, causando riscos à saúde e ao bem-estar do homem (NEVES, 2003).

A poluição ambiental, contaminação da água, devido à falta de esgoto sanitário, tem colocado cada dia mais, a questão do uso da água no centro dos interesses em todo o mundo, pois propicia a disseminação de diferentes agentes etiológicos, incluindo os virais, sendo os surtos de doenças virais, principalmente as entéricas, por veiculação hídrica descritos em muitos países. (MORESCO, 2011)

Uma das primeiras evidências de doença de veiculação hídrica deu-se em 1940, nos Estados Unidos (EUA) após várias pessoas apresentarem problemas gastrointestinais, logo após ocorreu um surto de hepatite em Nova Délhi (Índia), em 1950, consequência da contaminação da água por patógenos virais provenientes do esgoto. Depois desse acontecido, tiveram início os estudos na área da virologia ambiental. (MORESCO, 2011; TAVARES, 2005; PRADO, 2011).

No Brasil, na década de 1970 que foram registradas as primeiras pesquisas na área da virologia ambiental (PRADO e MIAGOSTOVICH, 2014). Contudo, estudos desenvolvidos abordando esta temática ainda são escassos (SPADA, 2012).

Os vírus entéricos são estáveis no ambiente aquático, possuindo resistência a diversos agentes físicos e químicos utilizados nos processos de tratamento de água e esgoto, permanecendo por longos períodos na água, resistindo a condições ambientais diversas tornando-se uma fonte de infecção. (MORESCO, 2011; TAVARES et al., 2005).

Diante do exposto, considerando o impacto que a água não tratada representa para

a saúde pública, sendo ela um veículo de transmissão de doenças, torna-se de fundamental importância à investigação desses agentes virais, permitindo avaliar tanto a qualidade da água bem como as cepas circulantes dos vírus de disseminação entérica. Assim, o presente estudo tem como objetivo realizar uma revisão sistemática descritiva da literatura com enfoque nos tipos de vírus encontrados em análises de água ambiental de diferentes localidades do Brasil.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo trata-se de uma revisão sistemática da literatura, no qual o objetivo é descrever os conhecimentos científicos publicados acerca de um tema de interesse (TEIXEIRA et al., 2013).

A questão norteadora da presente revisão é: Quais os agentes virais causadores de patologias aos seres humanos detectados em análises de água (água do mar, fontes de água potável, água superficial [lagoa e lagoa salobre]), águas residuais urbanas e tratados de esgoto no Brasil?

A busca dos artigos foi realizada através das bases de dados *online* LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências de Saúde), SciELO (*Scientific Electronic Library Online*), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS – BIREME) e Pubmed (*U.S National Library of Medicine*).

A busca foi realizada no mês de janeiro/2018 e compreendeu estudos publicados entre os anos 2007 a 2017, nos idiomas português e inglês, com resumos disponíveis nas bases de dados selecionadas, utilizando o descritor: “viral detection in water samples”.

Os critérios de inclusão foram artigos científicos originais publicados entre os anos de 2007 à 2017, nos idiomas português e inglês e que a detecção viral em águas. Os critérios de exclusão foram artigos de revisão, artigos duplicados, relato de caso e estudos ambientais que não analisaram a água.

Para a coleta dos dados foi realizada a tradução dos artigos e leitura, frente à pergunta norteadora.

3 | RESULTADOS

Este estudo detectou 2.105 artigos originais selecionados na busca primária. A tabela 1 mostra a quantidade de artigos selecionados por base de dados.

Base de artigos	Número de artigos
BIBLIOTECA V. EM SAUDE (BVS)	1.210
LILACS	28
SCIELO	19
PUBMED	848
Total	2.105

Tabela 1. Número de artigos encontrados por bases de dados.

Fonte: elaboração própria.

Após análise, foram excluídos 2.088 a partir da revisão do título e resumo por não responderem à pergunta, estarem em duplicata e não atenderem os critérios de inclusão do estudo. Foram elegíveis apenas 17 estudos para fazer parte do escopo desta revisão.

Na tabela 2 são apresentados os estudos que foram publicados no Brasil, entre os anos 2007 e 2017 que relataram a detecção de vírus em amostras de água.

AUTOR	ANO PUBLICAÇÃO	TITULOS
ASSIS et al	2014	Relationship between viral detection and turbidity in a watershed contaminated with group A rotavirus.
ASSIS et al	2016	Detection and Molecular Characterization of Gemycircularvirus from Environmental Samples in Brazil.
DE PAULA et al	2007	Hepatitis A virus in environmental water samples from the Amazon Basin.
ELMAHDY et al	2016	Spatial distribution of enteric viruses and somatic coliphages in a Lagoon used as drinking water source and recreation in Southern Brazil
FIORETTI et al	2016	Occurrence of human sapoviruses in wastewater and stool samples in Rio De Janeiro, Brazil.
FUMIAN et al	2010	Molecular detection, quantification and characterization of human polyomavirus JC from waste water in Rio De Janeiro, Brazil.
HELDT et al	2016	Hepatitis E Virus in Surface Water, Sediments, and Pork Products Marketed in Southern Brazil
MIAGOSTOVICH et al	2008	Molecular Detection and Characterization of Gastroenteritis Viruses Occurring Naturally in the Stream Waters of Manaus, Central Amazônia, Brazil.
RIGOTTO et al	2010	Assessment of adenovirus, hepatitis A virus and rotavirus presence in environmental samples in Florianopolis, South Brazil.
SPIIKI et al	2013	Detection of human adenovirus, rotavirus and enterovirus in water samples collected on dairy farms from Tenente Portela, Northwest of Rio Grande do Sul, Brazil.
SILVA et al	2015	High Species C Human Adenovirus Genome Copy Numbers in the Treated Water Supply of a Neotropical Area of the Central-West Region of Brazil.

TEIXEIRA et al	2017	Norovirus genogroups I and II in environmental water samples from Belém city, Northern Brazil.
VECCHIA	2012	First description of Adenovirus, Enterovirus, Rotavirus and Torque teno virus in water samples collected from the Arroio Dilúvio, Porto Alegre, Brazil.
VIEIRA et al	2017	The Impact of the Extreme Amazonian Flood Season on the Incidence of Viral Gastroenteritis Cases.
VIEIRA et al	2012	Detection of enteric viruses in recreational waters of an urban lagoon in the city of Rio de Janeiro, Brazil.
VICTORIA et al	2010	Assessment of norovirus contamination in environmental samples from Florianópolis City, Southern Brazil.
VICTORIA et al	2014	Gastroenteric virus dissemination and influence of rainfall events in urban beaches in Brazil.

Tabela 2. Estudos sobre detecção de vírus em amostras de água publicados no Brasil, entre 2007 e 2017.

Fonte: elaboração própria.

Na tabela 3 serão descritos os diferentes tipos de amostras de águas ambientais que foram analisadas e os respectivos vírus encontrados.

Autor / Ano	Vírus detectados	Áreas de coleta das amostras
ASSIS et al / 2014	Rotavírus (A)	Amostras de águas superficiais de uma bacia hidrográfica em Minas Gerais (MG).
ASSIS et al / 2016	Vírus Gemicircular	Amostras de água do rio coletadas em Manaus, região amazônica e águas residuais de uma área de estação de tratamento localizada no Rio de Janeiro(RJ).
DE PAULA et al / 2007	Vírus da Hepatite A	Amostras de água da Bacia Amazônica (AM)
ELMAHDY et al / 2016	Adenovírus, Rotavírus (A) e Vírus da Hepatite A	Amostras de água e amostras de sedimentos da lagoa Peri (SC).
FIORETTI et al / 2016	Sapovírus	Amostras águas residuais (RJ).
FUMIAN et al / 2010	Poliomavírus JC	Águas residuais de uma estação de tratamento de esgoto (STP) localizada no Rio de Janeiro(RJ).
HELDT et al / 2016	Não detectado	Amostras de água coletadas dos afluentes do rio Sinos (RS).
MIAGOSTOVICH et al /2008	Adenovírus, Rotavírus (A), Astrovírus e Norovírus	Amostras de água de córregos na bacia hidrográfica em torno da cidade de Manaus (AM).
RIGOTTO et al / 2010	Adenovírus, Rotavírus (A) e Vírus da Hepatite A	Amostras de água de várias fontes (água do mar, lagoa água salobre, águas residuais urbanas, fontes de água potável - com e sem cloração e água derivada de um riacho poluído), (FLORIANOPOLIS).

SPIPK et al / 2013	Adenovírus, Rotavírus (A) e Enterovírus	Amostras de água potável de poços e molas artesanais de fazendas leiteiras de Tenente Portela, Noroeste do Rio Grande do Sul (RS).
SILVA et al / 2015	Adenovírus,	Amostras de água tratada de um reservatório (CERRADO DO BRASIL).
TEIXEIRA et al / 2017	Norovírus	Amostras ambientais da região norte do Brasil. As amostras de água foram de diferentes fontes e esgoto (BELEM).
VECCHIA et al / 2012	Adenovírus, Enterovírus e Torque teno vírus	Amostras de água superficiais provenientes do Arroio Dilúvio, Porto Alegre, Brasil.
VIEIRA et al / 2017	Adenovírus, Rotavírus (A) e Norovírus	Água de água da bacia do rio Negro (AM).
VIEIRA et al / 2012	Adenovírus, Rotavírus (A) e Norovírus	Amostras de águas superficiais de uma lagoa urbana (Lagoa Rodrigo de Freitas) na cidade do Rio de Janeiro. Amostras de água da lagoa e de outros ecossistemas interligados (rio e praia), (RJ).
VICTORIA et al / 2010	Norovírus	Amostras de água, incluindo a água do mar, água potável, água superficial (lagoa e lagoa salobre) e tratados de esgoto (FLORIANOPOLIS).
VICTORIA et al / 2014	Adenovírus, Rotavírus (A) e Norovírus	Amostra de água recreativa em uma praia urbana localizada na cidade do Rio de Janeiro (RJ).

Tabela 3. Tipos de amostras analisadas e vírus encontrados.

Fonte: elaboração própria.

O Gráfico 1, demonstra os tipos virais detectados nas análises laboratoriais dos estudos realizados no Brasil em diferentes tipos de amostras de água.

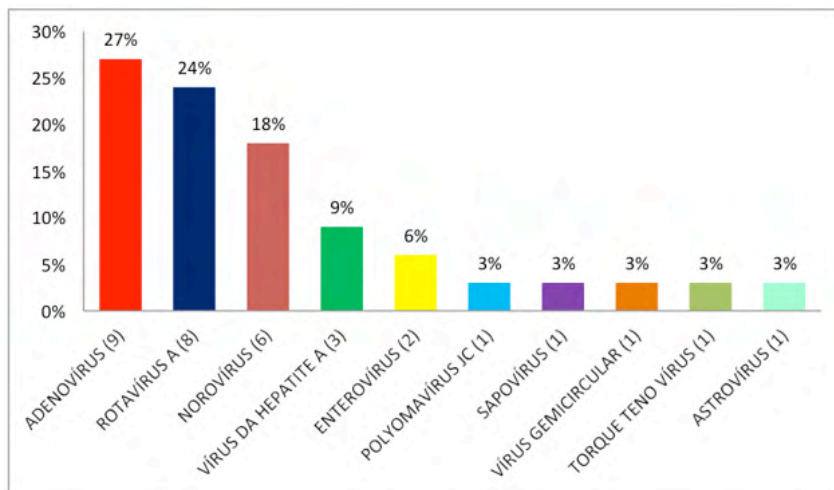


Gráfico 1. Tipos virais detectados nas análises laboratoriais.

4 | DISCUSSÃO

A transmissão de vírus através de água está se tornando cada vez mais frequente, inclusive no Brasil, por possuírem uma atividade de carga viral que mesmo em baixas concentrações pode desenvolver doenças, segundo Silva et al. (2015) ressaltando estes como um problema de saúde pública.

O presente estudo identificou dez tipos virais, sendo os mais frequentes o Adenovírus e o Rotavírus, seguido por Norovírus, evidenciando a importância que esses vírus têm de ocasionar problemas gastrointestinais, seja por fatores determinantes ou oportunistas, mostrando que há prevalência desses agentes em diversos estados do Brasil e diferentes matrizes de água (RIGOTTO et al., 2010; VICTORIA et al., 2010).

Muitos estudos relatam a detecção de diferentes tipos de vírus após análises de água. Segundo Vieira et al. (2012), os vírus que estão associados a surtos de doenças de veiculação hídrica são as espécies de Rotavírus da espécie A (RVA), Norovírus (NoV) Adenovírus (HAdV) e o vírus da Hepatite A (HAV). Estes agentes foram detectados nas análises realizadas no Brasil tanto em amostras de água ambiental como água residuais tratadas.

Os resultados de detecção desses vírus humanos nos diferentes sítios de coleta, mostraram que o HAdV foi o mais prevalente, sendo detectado em 27% (9/17) dos estudos analisados, demonstrando que os HAdV são, dos vírus veiculados por água, os mais estudados e detectados, tornando-se amplamente distribuídos (MIAGOSTOVICH et al., 2008; SPILKI et al., 2013; VECCHIA et al., 2012; VIEIRA et al., 2012; VIEIRA et al., 2017; VICTORIA et al., 2014).

Estudo levado a efeito por Elmahdy et al. (2016) detectou 82,4% de HAdV infecciosos em amostras de água superficiais da bacia hidrográfica da lagoa Peri (SC). Tal vírus foi também o mais prevalente em estudo conduzido por Rigotto et al. (2010), os quais obtiveram 64,9% de positividade para HAdV na análise de diferentes fontes de água. Silva et al. (2015) registraram 76,6% de HAdV em amostras de reservatórios de água tratados.

O segundo vírus mais encontrado nos diferentes sítios de coleta de água foi o RVA, presente em 24% (8/17) dos estudos analisados (ELMAHDY et al., 2016; MIAGOSTOVICH et al., 2008; SPILKI et al., 2013; VIEIRA et al., 2012; VIEIRA et al., 2017; VICTORIA et al., 2014). Dos estudos mais recentes que detectaram o RVA em amostras ambientais, está o trabalho de Rigotto et al. (2010) que detectou RVA tanto em amostras de água como tecidos de ostras.

Segundo Assis et al. (2014) o RVA foi detectado em todos os períodos com positividade de 62,5% das amostras de água superficiais analisadas indicando que o período de coleta não influenciou a detecção deste agente, mostrando a ocorrência de contaminação fecal destas fontes de água. Miagostovich et al. (2008) em seu estudo detectou 44,2% de RAV em amostras de águas de córregos e ainda relata que esse vírus

sempre foi causa de preocupação, especialmente em reservatório de água, uma vez que já se mostrou resistente a altas concentrações de cloro.

Segundo Silva et al. (2015) há necessidade de desenvolvimento de métodos mais eficientes para o monitoramento remoção e inativação desses vírus tanto em água tratada como ambiental, principalmente para o Adenovírus por ele possuir altas taxas de replicação e mutabilidade em hospedeiros, onde as partículas virais produzidas por esses hospedeiros possuem patogenicidade aumentada, elevando o risco de transmitir doenças (RIGOTTO et al., 2010).

A detecção do genoma desses vírus em amostras de água, onde apresenta os coliformes fecais dentro dos limites estabelecidos pela lei, destaca o fato que esse parâmetro microbiológico é inadequado para indicar contaminação viral e, conseqüentemente, avaliar os riscos potenciais para a saúde humana (MIAGOSTOVICH et al., 2008; VIEIRA et al., 2012; ASSIS et al., 2014).

Outro vírus avaliado, foi a detecção de Norovírus (NoV) o terceiro mais abundante presente em 18% (6/17) das amostras. Isso sugere que existe uma ampla distribuição desses vírus no ambiente, mas ele não está associado só ao contato humano com águas como também ao consumo de marisco contaminado. Por ele possuir diferentes cepas (GI e GII) pode ocorrer recombinação se uma pessoa consumir os dois fatores (água e marisco), podendo levar a origem de uma nova cepa de NoV. (RIGOTTO et al., 2010; VIEIRA et al., 2012; VIEIRA et al., 2017).

Embora se tenha ocorrência de infecções por NoV ao longo do ano, os maiores relatos ocorrem durante os meses mais frios como descrito por Teixeira et al. (2017) com positividade de 33,9% para NoV em amostras ambientais coletadas mensalmente de diferentes fontes de água e esgoto. Victoria et al. (2010) detectou 23% em diferentes amostras (água do mar, água potável, água superficial (lagoa e lagoa salobre) e tratados de esgotos).

A prevalência de Vírus da Hepatite A (HAV) ficou em torno de 9% (3/17). Estudos voltados para a detecção de HAV reportam a facilidade que este vírus tem de adsorver-se em partículas sólidas suspensas no ambiente aquático, protegendo-se de fatores ambientais (ELMAHDY et al., 2016; RIGOTTO et al., 2010).

DE Paula et al. (2007) detectaram em amostras de água da Bacia Amazônica 92% de cargas virais de HAV, enquanto que Elmahdy et al. (2016) detectaram 54,8% em amostras de água superficiais da bacia hidrográfica da lagoa Peri (SC) em amostras de verão e inverno.

O presente estudo também evidenciou outros tipos virais como o Vírus Gemicircular, Sapovírus, Polyomavírus, Torque teno vírus e o Astrovírus todos presentes em 3% (1/17) evidenciando assim que outros tipos virais de menos importância ou nunca estudados e ou detectados podem transmitir doenças em um hospedeiro susceptível. (ASSIS et al., 2016; FIORETTI et al., 2016; FUMIAN et al., 2010; VECCHIA et al., 2012; MIAGOSTOVICH et

al., 2008).

O Sapovírus (SaV) já é relatado há bastante tempo na literatura principalmente em outros países como Japão, Espanha e Itália. Segundo Fioretti et al. (2016) o seu trabalho foi o primeiro a detectar o SaV no Brasil enfatizando que existe uma diversidade genética desse vírus circulando na cidade do Rio de Janeiro.

O estudo evidenciou que o método mais utilizado para concentrar vírus em amostras de água foi a filtração de membrana com carga negativa, associados a métodos quantitativos de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). No entanto, os métodos de PCR apenas fazem a detecção dos vírus, mas não são capazes de quantificar suas cargas virais (DE PAULA et al., 2007; MIAGOSTOVICH et al., 2008; VICTORIA et al., 2010; VIEIRA et al., 2012; RIGOTTO et al., 2008).

Segundo Rigotto et al. (2010) o número elevado de amostras positivas para esses vírus se dá devido eles possuírem alta resistência à luz ultravioleta e altas temperaturas, possuindo capacidade de sobreviver em condições adversas explicando os níveis de contaminação. Miagostovich et al. (2008), então sugere que esses vírus sejam utilizados como os indicadores mais confiáveis para o monitoramento ambiental, devido sua prolongada persistência em ambientes aquáticos.

5 | CONCLUSÃO

O presente artigo abordou as publicações acerca dos tipos virais que foram detectados em análises de água em estudos realizados no Brasil. O trabalho destaca a importância que os vírus têm de ocasionar problemas no ser humano, principalmente às gastroenterites, as quais vem se destacando no cenário global.

A contaminação viral de diferentes matrizes de água (água do mar, fontes de água potável, água superficial (lagoa e lagoa salobre), águas residuais urbanas e tratados de esgoto, evidencia contaminação por dejetos humanos, principalmente nas localidades próximas às zonas urbanas, onde se encontra população ao redor dessas fontes de água, causados por uma urbanização desenfreada, sem redes de esgoto e ou saneamento básico e, portanto, estão sujeitas à contaminação.

As técnicas moleculares de PCR não são capazes de fornecer informações sobre o poder de infecção da partícula viral, detectam apenas os genomas que podem ser de partículas infecciosas, vírus inativados ou defectivos.

As publicações acerca do tema refletem que há falta de informação sobre vírus entéricos, visto que eles representam uma ameaça para a saúde humana.

REFERÊNCIAS

ASSIS et al. Relationship between viral detection and turbidity in a watershed contaminated with group A rotavirus. **Environ SciPollut Res.** 2014

ASSIS et al. Detection and Molecular Characterization of Gemycircularvirus from Environmental Samples in Brazil. **Food Environ Virol**, v.8, p.305–309, July 2016.

DE PAULA et al. Hepatitis A virus in environmental water samples from the Amazon Basin. **WATER RESEARCH**, v. 41, p. 1169– 1176, 2007.

ELMAHDY et al. Spatial distribution of enteric viruses and somatic coliphages in a Lagoon used as drinking water source and recreation in Southern Brazil. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, p.1-3, July 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.07.009>.

FIORETTI et al. Occurrence of human sapoviruses in wastewater and stool samples in Rio De Janeiro, Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v.121, p.855-862, 2016.

FUMIAN et al. Molecular detection, quantification and characterization of human polyomavirus JC from wastewater in Rio De Janeiro, Brazil. **Journal of Water and Health**, v. 8, n.3, p.1-8, 2010.

HELDT et al. Hepatitis E Virus in Surface Water, Sediments, and Pork Products Marketed in Southern Brazil. **Food Environ Virol**, v. 8, p.200–205, May 2016.

LUZ et al. Contaminação viral e bacteriana em águas subterrâneas na porção aflorante do Aquífero Guarani, município de Ivoti, RS. **Rev. Ambient.** Água. vol. 12 n. 5 Taubaté – Sep. / Oct. 2017

MIAGOSTOVICH et al. Molecular Detection and Characterization of Gastroenteritis Viruses Occurring Naturally in the Stream Waters of Manaus, Central Amazonia, Brazil. **APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY**. Vol.74, No.2, p. 375–382, Jan. 2008.

MORESCO, V. Detecção de Rotavírus em amostras de águas de superfície através de técnicas moleculares e de cultivo celular. 48f. Universidade Federal de Santa Catarina, Curso de Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2008.

MORESCO, V. Detecção e quantificação de patógenos entéricos virais em amostras de água do mar. 2011. 129f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

NEVES, K. O. Qualidade microbiológica da água de abastecimento público e alternativo no município de Ouro Preto, Minas Gerais. 2003. 89f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2003.

PRADO, T. Ocorrência de Rotavírus, Adenovírus, Norovírus e Vírus da Hepatite A em estações de tratamento de esgoto no Rio de Janeiro e avaliação de metodologias de recuperação viral em lodo de esgoto. 2011. 178f. Tese (Doutorado em Biologia Parasitária) - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.

PRADO, T; MIAGOSTOVICH, M. P. Virologia ambiental e saneamento no Brasil: uma revisão narrativa. **Cad. Saúde Pública**, v.30, n.7, p.1367-1378, jul, Rio de Janeiro, 2014.

RIGOTTO et al. Assessment of adenovirus, hepatitis A virus and rotavirus presence in environmental samples in Florianopolis, South Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 109, p. 1979–1987, 2010.

SPADA, P.K.P. Detecção de Adenovírus Humanos em amostras de água superficial e esgoto não tratado oriundas de diversos ecossistemas aquáticos da cidade de Belem-Pa.93f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Para, Núcleo de Medicina Tropical, Belém, 2012.

SILVA et al. High Species C Human Adenovirus Genome Copy Numbers in the Treated Water Supply of a Neotropical Area of the Central-West Region of Brazil. **Food Environ Virol**, v. 7, p. 286–294, 2015.

SPIILKI, F. R. et al. Detection of adenovirus, rotavirus and enterovirus in water samples collected on dairy farms from Tenente Portela, Northwest of Rio Grande do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 3, p. 953- 957, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822013000300046>.

TAVARES, T. M; CARDOSO, D. D. de P; BRITO, W.M.E.D. Vírus Entéricos veiculados por água: aspectos microbiológicos e de controle de qualidade da água. **REVISTA DE PATOLOGIA TROPICAL**, Vol. 34, n.2, p. 85-104. maio-ago, Goiânia, 2005.

TEIXEIRA, D.M. Detecção e Genotipagem de Norovírus em diferentes amostras de água e esgoto não tratado na cidade de Belém, Para, Brasil. 89f. Dissertação (Mestrado) -Universidade Federal do Para, Núcleo de Medicina Tropical, Belém, 2014

TEIXEIRA, E. et al. Revisão Integrativa da Literatura passo-a-passo. Convergência com outros métodos. **REV. ENF UFPI**. Teresina, n.2, p. 3-7, dec. 2013.

TEIXEIRA et al. Norovirus genogroups I and II in environmental water samples from Belém city, Northern Brazil. **Journal of Water and Health**, Vol.15, n. 1,p. 1-12, 2017.

VECCHIA, A. D. et al. First description of Adenovirus, Enterovirus, Rotavirus and Torque teno virus in water samples collected from the Arroio Dilúvio, Porto Alegre, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 72, n. 2, p. 1-7, 2012

VIEIRA et al. The Impact of the Extreme Amazonian Flood Season on the Incidence of Viral Gastroenteritis Cases. **Food Environ Virol**, v.9, p.195–207, February 2017.

VIEIRA et al. Detection of enteric viruses in recreational waters of an urban lagoon in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 107, n.6, p.778-784, September 2012.

VICTORIA et al. Assessment of norovirus contamination in environmental samples from Florianopolis City, Southern Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v.109, p.231–238, 2010.

VICTORIA et al. Gastroenteric virus dissemination and influence of rainfall events in urban beaches in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v.117, p. 1210--1218, 2014.

A PROTEÔMICA COMO FERRAMENTA PARA O DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO

Data de aceite: 01/08/2022

Benedito Rodrigues da Silva Neto

Pós-Doutor em Genética Molecular com concentração em Proteômica e Bioinformática.

Doutorado em Medicina Tropical e Saúde Pública pela Universidade Federal de Goiás.

Mestrado em Biologia Celular e Molecular

RESUMO: A proteômica é o estudo que descreve e quantifica proteínas, assim como suas interações, variações populacionais e alterações em resposta a uma modificação patológica ou fisiológica. Pretendemos aqui, descrever as inovações promovidas pela proteômica no contexto laboratorial de diagnóstico bacteriano, que cada vez mais contribuem para o avanço do desenvolvimento científico da pesquisa clínica. Selecionamos e analisamos publicações disponíveis na base de dados *Pubmed* relacionadas aos termos *Proteomic, bacteriological and clinic diagnostic*. Nos últimos 12 anos as publicações relacionadas à Proteômica têm tido um crescimento constante, assim como sua correlação com o diagnóstico clínico, ensaios executados *in vitro*, e consequentemente a técnica LC-MS-MS. A proteômica ainda tem a sua aplicação majoritária voltada a pesquisa científica, devido à fatores econômicos, no entanto é uma área científica que tem avançado e se desenvolvido como nenhuma outra na última década, e pode contribuir de forma significativa na especificidade e acurácia do diagnóstico clínico de bactérias.

PALAVRAS-CHAVE: Proteômica; diagnóstico

clínico; bacteriologia.

PROTEOMICS AS A TOOL FOR BACTERIOLOGICAL DIAGNOSIS

ABSTRACT: Proteomics is the study that describes and quantifies proteins, as well as their interactions, population variations and changes in response to a pathological or physiological modification. We intend here to describe the innovations promoted by proteomics in the laboratory context of bacterial diagnosis, which increasingly contribute to the advancement of the scientific development of clinical research. We selected and analyzed publications available in the *Pubmed* database related to the terms *Proteomic, bacteriological and clinical diagnostic*. In the last 12 years, publications related to proteomics have had a constant growth, as well as their correlation with clinical diagnosis, *in vitro* tests, and consequently the LC-MS-MS technique. Proteomics still has its major application focused on scientific research, due to economic factors, however it is a scientific area that has advanced and developed like no other in the last decade, and can significantly contribute to the specificity and accuracy of clinical diagnosis. of bacteria.

KEYWORDS: Proteomics; clinical diagnosis; bacteriology.

INTRODUÇÃO

De acordo com Tortora, Funke e Case (2012), a maioria de nós considera as bactérias como criaturas pequenas e invisíveis, potencialmente perigosas. Na realidade são

poucas as espécies que causam doenças em humanos, animais, plantas ou qualquer outro organismo. (...) sem as bactérias, a maior parte da vida como a conhecemos não seria possível. (...) são importantes para o mundo da microbiologia, para a medicina, e ainda têm a capacidade de ilustrar princípios biologicamente incomuns ou interessantes. Contudo, sabemos que em 1840, depois dos primeiros trabalhos de Pasteur, Friedrich Gustav Jacob Henle (1809-1885), em uma notável publicação, expôs as suas ideias, estabelecendo condições básicas para que um agente microscópico particular pudesse ser considerado causador de uma doença infecciosa ou infectocontagiosa.

Seguindo as ideias de Pasteur, que ao destruir a teoria da 'geração espontânea', John Needham 1745, afirmou estar o ar cheio de micróbios, e levando em conta que as fermentações e as putrefações são também obras de microrganismos, o médico Oliver W. Holmes (1809-1894) insistia que a febre puerperal era contagiosa e, provavelmente, ocasionada por um agente transmitido de uma mãe para outra, por intermédio dos médicos e das parteiras.

Sabemos que o período entre 1880 e 1900 representa a época áurea da Bacteriologia, com a descoberta de várias bactérias patogênicas. Por exemplo, foi nesse período, em 1881, durante um congresso internacional, ocorrido em Londres, que Louis Pasteur teve a oportunidade de tomar conhecimento da introdução, por Robert Koch, dos meios sólidos (gelatina, ágar, etc.) na Bacteriologia (até então Pasteur só usava meios líquidos, o que praticamente impossibilitava o isolamento bacteriano). Koch também desenvolveu técnicas de fixação e coloração, muitas das quais utilizamos até os dias de hoje.

O progresso nesta importante área da ciência foi exponencial, com o avanço da tecnologia e principalmente o advento da Biologia Molecular, a bacteriologia ganhou lugar de destaque na pesquisa básica, no desenvolvimento de fármacos, na engenharia genética e também no diagnóstico clínico/molecular.

Por meio do sequenciamento do genoma de diversos organismos, os cientistas chegaram à conclusão que apenas as sequências nucleotídicas não seriam suficientes para compreender as funções dos genes de forma plena, pois para alcançar este alvo se faz necessário o estudo completo das proteínas expressas. Devido ao fato do genoma não está diretamente relacionado com a atividade biológica, mas sim as proteínas, pois dentro do processo da elaboração proteica existem modificações que ocorrem após a transcrição da fita de DNA em RNAm e após a tradução do RNAm em peptídeo, e todo este processo determina a função biológica desempenhada pelo produto final da ação gênica, isto é a proteína produzida. Gerando assim, a necessidade do estudo proteômico para compreender plenamente as ações gênicas (GÓES e OLIVEIRA, 2014).

Em contraste com o genoma o proteoma é extremamente dinâmico, variando de acordo com as condições micro e macro ambientais, e por meio de seu estudo é possível determinar: a expressão de um gene; as concentrações proteicas; as modificações pós traducionais; os processos metabólicos regulatórios e/ou sinalizadores relacionados

a um estado fisiológico, patológico ou terapêutico e ainda a descoberta de novos alvos terapêuticos e moléculas bioativas. Logo, a proteômica apresenta maior complexidade em relação a genômica, e caracteriza um avanço no estudo de sistemas biológicos (CHANDRASEKHAR *et al.*, 2014).

É fundamental lembrarmos que o diagnóstico laboratorial possui extrema importância na determinação da patologia e do tratamento mais seguro, eficaz e recomendado a ser procedido pela equipe médica. De acordo com os avanços moleculares já alcançados, é evidente que os estudos e avanços na área proteômica podem contribuir nos avanços diagnósticos. E assim como afirma Emídio, *et al* (2015) o estudo do proteoma, bem como a elucidação da função das proteínas no contexto em que são expressas são de grande relevância para o diagnóstico de doenças, assim como aquelas causadas por bactérias.

DESENVOLVIMENTO

As células procarióticas são os menores microrganismos unicelulares existentes, medindo geralmente de 1 a 1,5 µm de largura por 2 a 6 µm de comprimento, ou seja, seu tamanho é da ordem de milésimos de milímetros, mas podem ser observadas em microscopia ótica, o que não ocorre com os vírus, que, possuidores de dimensões inferiores a 0,2 µm (limite de visibilidade do microscópio óptico) não podem ser observados neste instrumento (NOGUEIRA; MIGUEL, 2009; JORGE, 2010). A *Escherichia coli*, que é a mais estudada das bactérias, apresenta aproximadamente 1 µm de diâmetro. Contudo, as menores bactérias são os micoplasmas, formas que não apresentam parede celular e têm diâmetro de aproximadamente 0,1 µm. No outro extremo temos as bactérias assimiladoras de enxofre, do gênero *Beggiatoa*, como *B. gigantea*, que por sua vez apresentam comprimento de 26 a 60 µm.

Pela microscopia eletrônica observamos certas estruturas definidas nas bactérias, localizadas interna e externamente à parede celular. Determinadas estruturas estão presentes em certas espécies bacterianas; outras estão presentes mais frequentemente em uma espécie que nas demais. Estruturas fundamentais, como parede celular, membrana citoplasmática e citoplasma estão presentes em todas as bactérias. A estrutura que merece um destaque particular é a parede celular, que caracteriza-se por estrutura rígida que recobre a membrana citoplasmática, conferindo forma às bactérias. A parede celular está presente em todas as bactérias, exceção feita ao grupo dos micoplasmas, constituídos basicamente de uma macromolécula complexa denominada peptidoglicano (também chamada de mucopéptideo ou mureína). O peptidoglicano é uma molécula constituída por dois açúcares aminados: N-acetil-glicosamina e ácido N-acetil-murâmico, os quais estão ligados um ao outro intercaladamente.

Todas as atividades bacterianas dependem obrigatoriamente das habilidades do microrganismo em sobreviver no meio ambiente em que se encontra e se multiplicar. O

crescimento, tanto em meios de cultura no laboratório quanto em *habitats* naturais, somente pode ocorrer quando todos os nutrientes exigidos para obtenção de energia e para síntese de novos componentes celulares estão disponíveis. Segundo Jorge (2010), os nutrientes requeridos pelos microrganismos refletem diretamente sua capacidade fisiológica. De maneira geral, quanto mais simples seu requerimento nutricional, maior a extensão da complexidade fisiológica. O estudo das diferenças fisiológicas entre microrganismos com exigências nutricionais diferentes nos leva a compreender as diferenças, tanto das propriedades fisiológicas quanto do modo pelo qual respondem às alterações ambientais.

Deste modo, o crescimento bacteriano consiste essencialmente do equilíbrio na síntese dos componentes do citoplasma, inclusões e parede celular, a partir de materiais disponíveis em seu ambiente. O crescimento bacteriano exige a presença de nutrientes essenciais em concentrações ideais para as células e em ambiente propício. Assim, as bactérias necessitam de uma série de exigências de natureza física, inorgânica e orgânica para seu crescimento.

Observemos as principais características relacionadas à divisão conceitual das bactérias:

1 Cocos Gram-positivos

Constituem um grupo muito diverso de microrganismos, estudados em conjunto devido à forma esférica de suas células e por sua característica de positividade à coloração de Gram. Não formam endosporos, são geralmente imóveis e suas células costumam-se apresentar na forma esférica ou ligeiramente alongada.

O grupo apresenta gêneros de microrganismos aeróbios, anaeróbios facultativos e anaeróbios estritos. A forma de arranjo de suas células e a produção da enzima catalase são particularidades convenientes na caracterização dos gêneros. Vamos discutir os gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Peptostreptococcus* e *Stomatococcus*.

2 Cocos Gram-negativos

Dentre os cocos Gram-negativos vamos tratar em maiores detalhes sobre os gêneros *Neisseria*, *Branhamella* (gênero *Moraxella*, subgênero *Branhamella*) e *Veillonella*. O gênero *Neisseria* é responsável pela gonorreia, doença sexualmente transmissível, e pela meningite cérebro-espinhal epidêmica. *Branhamella* são microrganismos comensais do trato respiratório humano, podendo, eventualmente, tornar-se patogênicos. *Veillonella* são cocos anaeróbios obrigatórios encontrados na microbiota bucal humana, não apresentando geralmente potencial patogênico (RIBEIRO; JORGE, 2010).

3 Bacilos Gram-positivos

Muitos gêneros de bacilos Gram-positivos estão presentes na natureza e vários deles são importantes em doenças humanas. Vamos apresentar os bacilos Gram-positivos formadores de esporos dos gêneros *Bacillus* e *Clostridium* e os não esporulados dos gêneros *Corynebacterium*, mas temos também os *Actinomyces* e *Lactobacillus*.

4 Bacilos Gram-negativos

A família *Enterobacteriaceae* constitui um grupo heterogêneo de bastonetes Gram-negativos. Muitas espécies fazem parte da microbiota normal do trato intestinal dos animais e do homem, também estão presentes no solo, vegetação e água.

Os membros dessa família são bastonetes Gram-negativos, anaeróbicos facultativos, com 0,5 a 2,0 µm de largura por 1,0 a 4,0 µm de comprimento, não formadores de esporos, são móveis por flagelos peritríqueos ou imóveis. Possuem exigências nutricionais simples, fermentam glicose e outros carboidratos, não produzem oxidase e reduzem nitratos a nitritos. A maioria pode ser cultivada em meios de cultura simples e coram-se por corantes derivados da anilina.

Apresentam pili na superfície celular, os quais, em algumas espécies, conferem fator de aderência às superfícies epiteliais. Apresentam pili sexual, importantes na transferência de fatores de resistência aos antibióticos entre os mesmos e diferentes membros da família. Apresentam lipopolissacarídeos (LPS) na parede celular, chamados de endotoxinas (UENO; JORGE, 2010). O *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (1984) divide a família *Enterobacteriaceae* em oito tribos, baseado em homologia do DNA.

5 Espiroquetas

Espiroquetas são microrganismos espiralados (*spira*: espiral; *chaet*: cabelo), móveis, que formam um grupo heterogêneo de microrganismos. Em relação à parede celular das espiroquetas, sobre a camada de peptidoglicano encontra-se camada contendo os filamentos axiais (endoflagelos), que são recobertos por membrana externa semelhante à das Gram-negativas. Três gêneros da família *Treponemataceae* apresentam importância por produzirem doença no ser humano: *Treponema*, *Borrelia* e *Leptospira*.

6 Micobactérias

Representam um grupo de bacilos pertencente ao gênero *Mycobacterium*, são bactérias em forma de bastonetes delgados, caracteristicamente ácido resistentes, aeróbios, não esporulados, imóveis e que não apresentam cápsula. Estão largamente distribuídas no solo e água, algumas espécies são parasitas obrigatórios e patogênicas para vertebrados. Por fim, são ricas em lipídios, incluindo ácidos graxos, fosfolipídeos e ceras. Até 60% de sua parede celular é constituída de lipídios, em contraste com as bactérias Gram-negativas, que apresentam em torno de 20% e as Gram-positivas de 1 a 4%. Podemos dizer que é a presença dos ácidos micólicos que interfere na resposta à coloração de Gram (JORGE, 2010).

De uma maneira geral, as bactérias podem ser observadas de duas formas, a primeira a fresco, através de observação de suspensão bacteriana entre lâmina e lamínula, ou pela gota pendente, e a segunda através de um esfregaço fixado e corado.

Geralmente, a observação a fresco é utilizada para visualização da mobilidade e morfologia de bactérias espiraladas (que podem ficar distorcidas se fixadas), ou mesmo em outras bactérias, para observar alterações na divisão celular e formação de esporos.

Neste caso, utiliza-se geralmente um microscópio de campo escuro, pois as bactérias ao microscópio de campo claro tendem a aparecer transparentes, sendo necessária, muitas vezes, a utilização de filtros de densidade neutra para diminuir a intensidade luminosa e facilitar a visualização.

Todavia métodos automatizados e capazes de identificar maior número de amostras, com maior acurácia e com tempo otimizado são necessários. No final da década de 70 O' Farrel (1975) desenvolveu a inovadora técnica de eletroforese bidimensional (2D) que separa as proteínas utilizando dois parâmetros diferentes, na primeira dimensão por ponto isoelétrico (ponto onde a carga líquida seja igual a zero) e na segunda por peso molecular. Aplicando esta técnica pesquisadores deram início a bases de dados de proteínas, desenvolvendo o que anos depois viria a ser a proteômica. E de acordo com Parker, Warren e Mocanu (2010) e Weber (2013) no ano de 1994 o termo proteoma foi proposto por Marc Wilkins para denominar todo conteúdo de proteínas expressas por um genoma.

De acordo com Galdos-Riveros (*et al.*, 2010) no início das análises proteômicas o principal objetivo era apenas a identificação em larga escala de todas as proteínas presentes em uma célula ou tecido. Contudo, este propósito foi modificado, sendo direcionado ao estudo das diferentes características funcionais das proteínas, tais como: interações de proteína com proteína; existência de isoformas, isto é, formas distintas de uma proteína que são produzidas a partir de genes diferentes ou por processo alternativo; diferenciação da expressão proteica em estado patológico ou fisiológico; modificações pós-traducionais; atividades e estruturas.

A proteômica atua descrevendo e quantificando o conjunto de proteínas de uma organela, assim como suas interações, variações populacionais e alterações em resposta a uma modificação patológica ou fisiológica em seu meio ambiente (Barbosa *et al.*, 2012). E segundo Emidio *et al.*, (2015) A proteômica tem crescido e ampliado sua área de atuação, abrangendo a descoberta de novas drogas, terapias e diagnósticos, inovando também na microbiologia e na bioquímica. Assim, a proteômica tornou possível a identificação e caracterização de moléculas endógenas ou exógenas específicas de um determinado estado patológico, denominadas de marcadores biológicos. O que contribui imensamente no diagnóstico precoce, favorecendo também o prognóstico e o tratamento do paciente. O procedimento aplicado nos ensaios proteômicos baseia-se na utilização conjunta de diferentes técnicas, tais como: eletroforese, cromatografia, espectrometria de massas e as ferramentas da bioinformática, desta maneira executasse a separação e identificação proteica (EMIDIO *et al.*, 2015).

A técnica da espectrometria de massas baseia-se no fato de que cada composto possui uma fragmentação única, um padrão de espectro de massa específico. Consistindo basicamente, na ionização de um composto e na avaliação da razão massa/carga (m/z) dos íons, em fase gasosa. O equipamento utilizado compreende uma fonte de ionização, um ou mais analisadores de massas, um detector e um sistema de aquisição de dados

(BARBOSA *et al.*, 2012).

Na espectrometria de massas a amostra proteica passa pela ionização seja por *electrospray* (ESI) ou por dessorção a laser assistida por matriz (MALDI), em seguida um analisador ou múltiplos analisadores irão medir a massa dos íons, os mais utilizados são o analisador de massa quadrupolo e/ou o de tempo de voo (ToF), e podem ser empregados em conjunto como instrumentos espectrométricos de massa em tandem QToF. As massas obtidas formam uma espécie de impressão digital (*fingerprinting*) da proteína. Softwares especiais permitem comparar o *fingerprinting* da proteína com os presentes nos bancos de dados, identificando a mesma se estiver presente no banco (EL-ANEED *et al.*, 2009).

O proteoma de um microrganismo é uma entidade dinâmica que se altera constantemente em resposta aos diversos fatores externos. Através das informações obtidas pela descrição das proteínas encontradas em uma dada patologia é possível não apenas estabelecer um diagnóstico mais rápido e seguro, mas também determinar o melhor tratamento a ser prescrito e a eficácia do mesmo. Com os avanços nas técnicas de proteômica e com os sistemas de processamento de dados, desenvolvidos pela bioinformática, a proteômica em conjunto com a farmacogenômica poderão nos conduzir a novas formas de diagnóstico e tratamento (MATA, 2004; WEBER, 2013).

REFERÊNCIAS

1. O'FARRELL, P. H. **Eletroforese bidimensional de alta resolução de proteínas**. J. Biol. Chem. v. 250, n. 10, p. 4007-4021, 1975. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2874754/pdf/nihms201444.pdf>>. Acesso em 06 de março de 2018.
2. PARKER, C. E. WARREN, M. R. MOCANU, V. **Neuroproteomics**. Fronteiras na Neurociência. Universidade da Carolina do Norte. Editor Oscar Alzate. Cap 5. Boca Raton (FL): CRC Press / Taylor & Francis; 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56018/>>. Acesso em 11 de março de 2018.
3. WEBER, S. S. **Abordagens proteômicas e suas aplicações no campo da hematologia**. Artigo de conclusão do curso de pós-graduação em Hematologia Laboratorial, AC&T, São José do Rio Preto. 2013. Disponível em: <http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/revista_virtual/hematologia/hemato27.pdf>. Acesso em 11 de março de 2018.
4. MATA, O. M. **Farmacogenética, farmacogenômica y proteômica**. Monografía XV: Nuevos avances en medicamentos en la medicina personalizada. REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA. 2004. Disponível em: <<http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/view/534/552>>. Acesso em 02 de setembro de 2017.
5. BARBOSA, E. B. *et al.* **Proteômica: metodologias e aplicações no estudo de doenças humanas**. Rev Assoc Med Bras. V. 58, n. 3, pg: 366-375, 2012.
6. GALDOS-RIVEROS, A. C. *et al.* **Proteômica: novas fronteiras na pesquisa clínica**. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer – Goiânia. V.6, N.11. 2010.

7. GÓES, A. C. S. OLIVEIRA, B. V. X. **Projeto genoma humano**: um retrato da construção do conhecimento científico sob a ótica da revista *Ciência Hoje*. *Ciênc. Educ.*, Bauru, v. 20, n. 3, p. 561-577, 2014.
8. EMIDIO, N. B. *et al.* **Proteômica**: uma introdução aos métodos e aplicações. *HU Revista*, Juiz de Fora, v. 41, n. 3 e 4, p. 101-111, jul./dez. 2015.
9. CHANDRASEKHAR, K. *et al.* **A short review on proteomics and its applications**. *International Letters of Natural Sciences Online*. Vol. 17, pg 77-84. 2014.
10. ROCHA, T. L. *et al.* **Eletroforese em gel bidimensional e análise de proteoma**. Comunicado técnico 136. Embrapa. Brasília. 2005.
11. EL-ANEED, A; Cohen A; Banoub, J. **Mass spectrometry, review of the basics: electrospray, maldi, and commonly used mass analyzers**. *Journal Applied Spectroscopy Reviews*, v. 44, e. 3, p. 210-230, mar. 2009.
12. ZHAO, X. *et al.* **Quantitative Proteomic Analysis of Optimal Cutting Temperature (OCT) Embedded Core-Needle Biopsy of Lung Cancer**. *Journal of The American Society for Mass Spectrometry*, v. 28, e. 10, p. 2078-2089, Oct. 2017.
13. AYRES, M. *et al.* **Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas**. *Bio Estat.* Belém do Pará, Brasil, 2007.
14. JORGE, Antonio Olavo Cardoso. *Micobactérias*. In: JORGE, Antônio Olavo Cardoso. *Princípios de microbiologia e imunologia*. São Paulo: Santos Editora, 2010.
15. JUNQUEIRA, Juliana Campos; JORGE, Antonio Olavo Cardoso. *Bacilos Gram- positivos*. In: JORGE, Antônio Olavo Cardoso. *Princípios de microbiologia e imunologia*. São Paulo: Santos Editora, 2010.
16. KOGA-ITO, Cristiane Yumi; JORGE, Antonio Olavo Cardoso. *Características gerais dos fungos*. In: JORGE, Antônio Olavo Cardoso. *Princípios de microbiologia e imunologia*. São Paulo: Santos Editora, 2010.
17. MOURA, Roberto de Almeida *et al.* *Técnicas de laboratório*. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2008.
18. NOGUEIRA, Joseli Maria da Rocha; MIGUEL, Lucieny de Faria Souza. *Bacteriologia*. In: MOLINARO, Etelcia Moraes; CAPUTO, Luzia Fátima Gonçalves; AMENDOEIRA, Maria Regina Reis (orgs.). *Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde*: volume 1. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2009.
19. OPAS, ANVISA, REDE RM, CGLAB/SVS/MS. *Medidas de prevenção e controle da resistência microbiana e programa de uso racional de antimicrobianos em serviços de saúde*. São Paulo: Disciplina de Infectologia da UNIFESP, 2007.

CAPÍTULO 7

DOENÇA DE CHAGAS E OS MICRORNAS

Data de aceite: 01/08/2022

Data de submissão: 30/06/2022

Larissa Rodrigues de Sousa

Universidade Estadual do Maranhão-UEMA
Zé Doca-Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/5592182089146389>

Alania Frank Mendonça

Universidade Estadual do Maranhão-UEMA
Zé Doca-Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/3865263332119363>

Ana Carla Silva Jansen

Universidade Estadual do Maranhão-UEMA
Zé Doca-Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/4905415169864624>

Francisca de Brito Souza Araújo

Universidade Estadual do Maranhão-UEMA
Zé Doca-Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/3517596979383542>

Antonia Claudia da Conceição Palmeira

Universidade Estadual do Maranhão-UEMA
Zé Doca-Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/8834474096531833>

Vanilza da Silva

Universidade Estadual do Maranhão-UEMA
Zé Doca-Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/3468384469650398>

Eldevan da Silva Barbosa

Universidade Estadual do Maranhão-UEMA
Zé Doca-Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/8385390184626184>

Ana Gabrielly de Melo Matos

Universidade Estadual do Maranhão-UEMA
Bacabal - Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/1409134844631350>

Ygor Victor Ferreira Pinheiro

Universidade Federal do Delta do Parnaíba-
UFDPAr
Parnaíba-Piauí
<http://lattes.cnpq.br/1264968110471451>

Juliana Maria Trindade Bezerra

Universidade Estadual do Maranhão-UEMA
Lago da Pedra-Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/6550540890812922>

Andréa Pereira da Costa

Universidade Estadual do Maranhão-UEMA
São Luís-Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/9060175466064691>

Jaqueline Diniz Pinho

Universidade Estadual do Maranhão-UEMA
Zé Doca-Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/6694295336757147>

RESUMO: As doenças parasitárias representam um sério problema de saúde pública, estima-se que mais de um bilhão de pessoas no mundo são acometidas. Dentre essas, a doença de Chagas (DC), zoonose causada pelo *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). Alguns estudos apontam a resistência e a patogênese da DC aos microRNAs (miRNAs). Os microRNAs são moléculas endógenas de RNAs de fita simples, não codificantes (ncRNAs) de proteínas que funcionam regulando a expressão gênica e desempenham uma série de

processos fisiológicos e patológicos. Acredita-se que essas moléculas estejam envolvidas na resposta inflamatória e na modulação das respostas imunes inatas e adaptativas em doenças infecciosas. Nesse contexto, esta revisão se propõe a abordar o papel dos microRNAs na DC, pois, evidências emergentes têm apontado para o direcionamento terapêutico de ncRNAs, como miRNAs e RNAs não codificantes longos (lncRNAs), representando uma abordagem atraente para o tratamento de vários tipos de doenças. No presente estudo, foram reunidas as principais pesquisas realizadas com microRNAs em DC no mundo. Dentre os microRNAs observados envolvidos na DC, destaca-se o *miR-155*, que demonstrou ser um regulador principal de células hematopoiéticas, incluindo monócitos, macrófagos, células T e células B, afetando a expressão de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. Além deste, a superexpressão de *miR-21* e *miR-146a* foi observada no coração e no plasma de camundongos em ambas as fases da DC. De acordo com os dados, percebe-se que os microRNAs desempenham diversas funções em um indivíduo acometido pela DC, desde a resistência à infecção como também na regulação de processos patológicos, principalmente cardíacos. Desta forma, compreender os mecanismos de ação dos microRNAs diante da patologia é fundamental para o entendimento da DC a nível molecular e consequentemente para o manejo da doença.

PALAVRAS-CHAVE: Doenças parasitárias; ncRNAs; doença de chagas.

CHAGAS DISEASE AND MICRONES

ABSTRACT: Parasitic diseases represent a serious public health problem, and it is estimated that more than one billion people worldwide are affected. Among these is Chagas disease (CD), a zoonosis caused by *Trypanosoma cruzi* (T. cruzi). Some studies point the resistance and pathogenesis of CD to microRNAs (miRNAs). MicroRNAs are endogenous single-stranded, non-coding RNAs (ncRNAs) molecules of proteins that function by regulating gene expression and play a number of physiological and pathological processes. These molecules are believed to be involved in the inflammatory response and in the modulation of innate and adaptive immune responses in infectious diseases. In this context, this review proposes to address the role of microRNAs in CD, because, emerging evidence has pointed to the therapeutic targeting of ncRNAs, such as miRNAs and long non-coding RNAs (lncRNAs), representing an attractive approach for the treatment of various types of diseases. Among the microRNAs observed to be involved in CD, miR-155 has been shown to be a key regulator of hematopoietic cells, including monocytes, macrophages, T cells, and B cells, affecting the expression of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines. In addition, overexpression of miR-21 and miR-146a was observed in the heart and plasma of mice in both phases of CD. According to the data, microRNAs play several functions in an individual affected by CD, from resistance to infection to the regulation of pathological processes, especially cardiac. Thus, understanding the mechanisms of action of microRNAs in the face of pathology is fundamental to the understanding of CD at the molecular level and consequently to the management of the disease.

KEYWORDS: Parasitic diseases; ncRNAs; chagas disease.

1 | INTRODUÇÃO

As doenças parasitárias são um sério problema de saúde pública. Estima-se que mais de um bilhão de pessoas no mundo estejam diretamente ligadas à uma parasitose. Entre essas, têm-se a doença de Chagas (DC), que tem como agente causador o *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) (Carlos Chaga, 1909); (MEDINA *et al.*, 2020).

A DC é encontrada com mais frequência na América Central e do Sul, sendo uma infecção transmissível, que acomete o sangue e ataca o coração. Um dos meios mais comuns é a infecção transmitida pelas fezes do inseto infectado, sendo este o *Triatoma infestans*, conhecido popularmente como barbeiro, não sendo este a única espécie transmissora. Também pode ser adquirida por meio da ingestão de carnes e bebidas contaminadas pelo parasita. A DC tem dois estágios, a fase aguda e a fase crônica, sendo que na fase crônica, cerca de sete a cada dez pessoas não apresentam sintomas, e em média, de 20 a 30% dos contaminados desenvolvem manifestações crônicas (JHA *et al.*, 2020).

Além disso, ainda não existe vacina para a DC, somente o tratamento durante a fase aguda da doença, que é feito com o uso do medicamento benzonidazol e nifurtimox, para que assim não evolua para a fase crônica. No entanto, o tratamento não tem grande eficácia, necessitando assim de agentes quimioterápicos mais avançados (FERREIRA *et al.*, 2019)

Alguns estudos apontam a resistência e a patogênese da DC aos microRNAs (miRNAs) (FERREIRA, 2020). Essas são moléculas endógenas curtas que funcionam regulando a expressão gênica. Entende-se que os miRNAs são expressos diferencialmente em diferentes tipos de doenças, além de desempenhar papéis fundamentais na patogênese da doença, que a caracterização de miRNAs específicos associados à doença pode levar a aplicações clínicas (NONAKA, 2018). Nesse contexto, esta revisão se propõe a abordar o papel dos microRNAs na DC.

2 | REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Epidemiologia

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que 2021 aproximadamente 6 milhões de pessoas estejam infectadas pelo *T. cruzi* no mundo, mais de 75 milhões de pessoas em risco e 12.000 mortes por anos, sendo, uma doença endêmica em 21 países, ocorrendo principalmente na América Latina em países como o Brasil, Colômbia, Chile e Argentina, estando também presente na América do Norte, Europa, Japão e Austrália devido a globalização (OMS, 2022).

No Brasil, a DC é um grave problema de saúde pública, sendo a quarta causa de morte entre as doenças infecto-parasitárias, onde em 2021, estima-se que houvesse pelo menos um milhão de pessoas infectadas pelo parasita (BRASIL, 2021). Segundo o

Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), no Brasil no ano de 2020 foram notificados 180 casos da doença de chagas aguda (DCA). Ainda, segundo esses dados, das regiões brasileiras, o Norte do país apresentou a maior incidência da doença. Na região Norte do Brasil há predomínio da transmissão oral da DC, que ocorre pela ingestão de alimentos contaminados, uma vez que o número de infecções está relacionado ao consumo de polpas de açaí infectadas pelo protozoário, e a região Norte concentra a maior produtividade e consumo da fruta (FARIAS & BRITO, 2020; MORAES *et al.*, 2021).

É importante salientar, que no Brasil apenas os casos agudos são de notificação obrigatória no Sistema de Informação de Agravos de Notificação, e no país, a maioria dos indivíduos infectados estão na fase crônica da doença (SANTOS *et al.*, 2020). Dessa forma, os números de casos são bem mais expressivos, o que contribui para que a doença seja negligenciada no Brasil e o país seja considerado um dos principais focos endêmicos da DC (FERNANDES *et al.*, 2019).

2.2 Transmissão

A transmissão do *T. cruzi* pode ocorrer de forma vetorial, oral, congênita e transfusões sanguíneas, sendo a forma oral e vetorial as mais comuns (GERES, RABI & BONATTI, 2022). A transmissão oral possui um destaque epidemiológico expressivo no Brasil, especialmente na Região Amazônica, sendo o principal meio de infecção do agente nos últimos anos e ocorre através da ingestão de alimento cru, mal-cozido e contaminado pelas fezes ou urina dos triatomíneos, popularmente conhecidos no Brasil como “barbeiros” (LIDANI *et al.*, 2019, SANTANA *et al.*, 2019).

A transmissão vetorial é a principal via de infecção por *T. cruzi* e ocorre quando insetos (hematófagos da ordem Heteroptera, família Reduviidae, mais conhecidos como triatomíneos, infectados por *T. cruzi*), ao realizar o repasto sanguíneo, defeca durante ou logo após a hematofagia, eliminando os protozoários sobre a pele do indivíduo. Então, nesse momento as formas infectantes do parasita são transferidas para a circulação do hospedeiro, via solução de continuidade, ou pelas mucosas, dando início a fase aguda da doença (WOLLSCHIED *et al.*, 2016).

A forma de transmissão vertical ou congênita, ocorre quando a gestante infectada transmite o protozoário para o filho por via transplacentária, ou no momento do parto (FREITAS, 2021). Caso a mãe seja portadora da fase aguda da doença o bebê pode ser infectado durante a amamentação, ou caso seja portadora da fase crônica e haja presença de lesões ou sangramentos durante a amamentação também pode haver a transmissão (MATTOS, 2017).

A infecção por transfusões sanguíneas e transplante de órgão acontece quando o paciente em estado saudável, recebe um órgão de um doador infectado (BENJAMIN *et al.*, 2012). É importante ressaltar que em décadas passadas a Doença de Chagas Transfusional (DCT) foi muito comum, mas atualmente raramente ocorre, devido a iniciativa dos Países

do Cone Sul para a eliminação da doença de Chagas, a partir de 1991, intensificando as ações de controle das atividades hemoterápicas, através da normatização de regras, procedimentos e de efetiva vigilância epidemiológica, a fim de reduzir o risco de DCT (DIAS, 2006; ARRAIS *et al.*, 2019).

2.3 Diagnóstico e tratamento

O diagnóstico da infecção pelo *T. cruzi* deve ter suporte da epidemiologia, da clínica e confirmação do agente etiológico pelo diagnóstico laboratorial. Este pode ser dividido, didaticamente, em 3 categorias: parasitológicos, sorológicos e moleculares (LUQUETTI & RASSI, 2000).

Os métodos parasitológicos são classificados em diretos e indiretos e baseiam-se na demonstração do parasito sob a forma de tripomastigotas em amostras de sangue e outros líquidos orgânicos diretamente ao exame microscópico e indireto. Os métodos diretos são mais indicados para a doença em fase aguda e incluem o exame de sangue a fresco, esfregaço sanguíneo, gota espessa e métodos de concentração. No exame de sangue a fresco, esfregaço sanguíneo e gota espessa, o sangue deve ser coletado nos estágios iniciais de sintomas, sendo o teste direto a fresco o mais sensível e deve ser o método de escolha para a fase aguda. (BRASIL, 2013; ALVES *et al.*, 2018; MALTA, 2022).

Os métodos de concentração dos parasitos (micro-hematócrito ou Strout) aumentam a probabilidade de detecção da parasitemia e são indicados quando a pessoa possui os sintomas a mais de 30 dias e o teste direto a fresco der negativo, devendo ser os testes de escolha, uma vez que a parasitemia começa a baixar (ALVES *et al.*, 2018).

Já os exames parasitológicos indiretos são os mais indicados para a doença na fase crônica, por apresentarem uma maior eficácia, visto que a doença neste estágio apresenta parasitemia baixa. Inclui, o xenodiagnóstico e a hemocultura (TURCINSKI, FELIX & ITO, 2021).

Além dos métodos acima, existem os testes sorológicos, que têm como princípio a ligação antígeno -anticorpo e que são utilizados na fase crônica, sendo essencial o uso de um teste de elevada sensibilidade associado a outro de alta especificidade. Os testes de Immunoenzyme Assay - ELISA, Imunofluorescência Indireta - IFI e Hemaglutinação Indireta - HAI são os indicados para determinar o diagnóstico. A confirmação ocorre quando pelo menos dois testes são reagentes (BRASIL, 2013; CARVALHO *et al.*, 2022; MACEDO *et al.*, 2020).

Utiliza-se também a Reação em Cadeia de Polimerase ou PCR, onde todo o processo de diagnóstico é baseado no uso de oligonucleotídeos sintéticos que amplificam sequências de DNA específicas para o patógeno alvo. Sendo este método importante para o prognóstico e diagnóstico da doença (CAVATÃO, 2022).

Em caso de transmissão congênita, o teste mais indicado é o teste sorológico. Caso o teste sorológico seja negativo, a criança está livre da doença. Em caso positivo, faz-se

necessário o tratamento etiológico imediato da criança (LIMA *et al.*, 2019).

Os tratamentos mais utilizados são baseados no uso de medicamentos destinados ao controle da doença e a eliminação do parasita (RIBEIRO *et al.*, 2017). Em pessoas com doença aguda, o medicamento mais indicado é o benzonidazol, que deve ser indicado especificamente por profissional habilitado assim que a patologia for confirmada (SANTOS *et al.*, 2022).

É necessário ressaltar que não existem tratamentos eficazes disponíveis para combater a doença de Chagas, isso decorre da ausência de insights para a produção de novas terapias, portanto, novos medicamentos são necessários com urgência (MARTÍN-ESCOLANO *et al.*, 2020). Nesse contexto, evidências emergentes têm apontado para o direcionamento terapêutico de RNAs não codificantes (ncRNAs), como microRNAs (miRNAs) e RNAs não codificantes longos (lncRNAs), representando uma abordagem atraente para o tratamento de vários tipos de doenças (WINKLE *et al.*, 2021).

2.4 Micrornas

Os microRNAs são moléculas endógenas de RNAs de fita simples, não codificantes de proteínas, e apresentam em sua estrutura cerca de 18-25 nucleotídeos, os quais são capazes de regular a expressão a nível pós-transcricional (LU & ROTHENBERG, 2017). Essa classe de pequenos RNAs não codificantes funciona como importantes reguladores da expressão gênica, além de serem poderosos reguladores de várias atividades celulares, incluindo crescimento celular, diferenciação, desenvolvimento e apoptose (SALIMINEJAD *et al.*, 2019).

Essas biomoléculas desempenham um papel significativo na modulação de uma série de processos fisiológicos e patológicos (BAHSKARAN & MOHAN, 2014) e funcionam principalmente ligando-se a sequências alvo complementares no RNA mensageiro (mRNA) e interferindo na maquinaria de tradução, impedindo ou alterando a produção do produto proteico (MOHR & MOTT, 2015). Acredita-se também que os microRNAs estão envolvidos tanto na resposta inflamatória quanto na modulação das respostas imunes inatas e adaptativas em doenças infecciosas (MOHR & MOTT, 2015).

A biogênese dos microRNAs inicia-se no núcleo, com a síntese de um longo transcrito chamado de pri-miRNA, sintetizado pela RNA-polimerase II (ANNESE *et al.*, 2020). Os pri-miRNAs são subsequentemente clivados por uma enzima DROSHA/DGCR8 formando os pré-miRNAs. Logo, estes são exportados do núcleo para o citoplasma por uma proteína de membrana denominada Exportin-5, após este processo a estrutura resultante, é designada miRNA precursor (pré-miRNA) (PARDINI *et al.*, 2018; NAHAND *et al.*, 2019).

No citoplasma, os pré-miRNAs são processados pela enzima DICER, que remove a alça na estrutura *stem-loop*, resultando na formação de um dúplice de RNA. Este dúplice de RNA é incorporado ao complexo de silenciamento induzido por RNA (RISC), no qual as duas fitas de RNA são separadas. Uma destas fitas permanece associada ao RISC e

constitui o miRNA maduro e a fita complementar sofre degradação (Figura 1) (PARDINI *et al.*, 2018; NAHAND *et al.*, 2019).

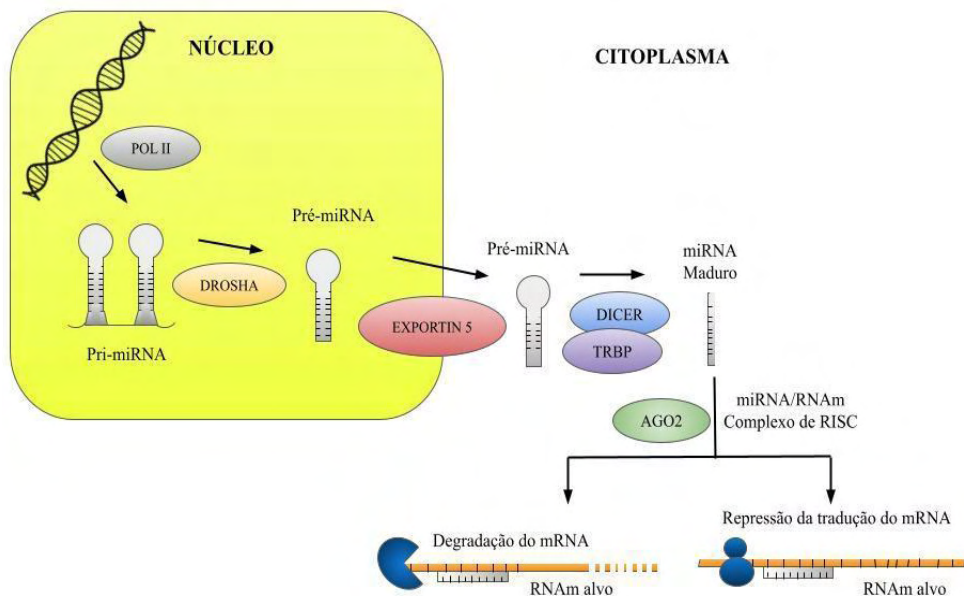


Figura 01- Biogênese dos MicroRNAs.

Fonte: Autores, 2022.

Os microRNAs estão associados a diversas patologias, e participam ativamente dos mecanismos fisiopatológicos da DC, atuando diretamente na relação parasita-hospedeiro (IMPROTA & ARAS, 2021). A DC caracteriza-se por apresentar intensos processos inflamatórios e fibróticos induzidos pela perpetuação do parasita nos tecidos e órgãos afetados. A resposta imune na DC é complexa e várias células imunes desempenham diferentes papéis no estabelecimento e controle da infecção (CARDOSOS; REIS-CUNHA & BARTHOLOMEU, 2015; JHA, *et al.*, 2020).

Acredita-se que as respostas imunes diferenciais do hospedeiro contribuam para a suscetibilidade ou resistência à infecção (JHA *et al.*, 2020; CARDOSO *et al.*, 2015). O sucesso ou o fracasso da infecção depende destas interações complexas entre parasita-hospedeiro nas quais os parasitas podem modular a expressão gênica da célula hospedeira, por meio de microRNAs (miRNAs) que reprimem mRNAs de uma maneira específica (CASTILLO *et al.*, 2018), como visto na tabela 01, onde encontra-se os principais trabalhos realizados com microRNAs em doença de Chagas (Tabela 01).

microRNAs	Característica	Gene alvo	Relação com a DC	Uso potencia	Origem do estudo	Referências
<i>miR-146a</i>	Envolvido nos mecanismos de controle do receptor TRL (<i>Toll-Like</i>)	TRL*	Super expresso durante a fase aguda e indeterminada da doença	Biomarcador para DC (regulador positivo em ambas as fases)	México/ Brasil	NAVARRO <i>et al.</i> , 2015; BALLINAS-VERDUGO <i>et al.</i> , 2021.
<i>miR-208a</i>	Regulador essencial dos genes envolvidos na hipertrofia e fibrose cardíaca	PI3K/AKT/ mTOR**, GATA-4***	Super expressão durante a fase aguda	Biomarcador da Fase Crônica da Doença de Chagas	China/ Brasil	ZHANG <i>et al.</i> , 2017; LINHARES-LACERDA <i>et al.</i> , 2018; IMPROTA-CARIA & JUNIOR, 2021
<i>miR-21</i>	Regulador de vários processos relacionados à patogênese de doenças cardiovasculares, (proliferação/apoptose /crescimento/morte de células cardíacas)	SPRYL e CADML****	Está envolvido na fibrose e hipertrofia cardíaca em resposta à infecção pelo T. cruzi (Super expressão).	Alvo terapêutico para a cardiomiopatia chagásica	México/ Brasil	NAVARRO <i>et al.</i> , 2015; NONAKA <i>et al.</i> , 2021; BALLINAS-VERDUGO <i>et al.</i> , 2021
<i>miR-133b</i>	Controla o fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF)7 e regula a expressão de alguns fatores transcricionais, como o GATA-4, que está associado à ativação de genes cardíacos pró-hipertrofos	CTGF*****	Superexpresso em pacientes com DC.	Biomarcador	Brasil	IMPROTA-CARIA & JUNIOR, 2021;
<i>miR-208b</i>		GATA-4***		Biomarcador e Alvo terapêutico		
<i>miR-30a</i>		-		-		
<i>miR-190b</i>	viabilidade celular	PTEN*****	Diminuição das taxas de viabilidade celular pela modulação negativa da expressão da proteína PTEN em células infectadas	Alvo terapêutico para a cardiomiopatia chagásica	Brasil	MONTEIRO <i>et al.</i> , 2015

*- *Toll-Like*

**_ _

***- GATA Binding Protein 4

****_ _

*****- Fator de crescimento do tecido conjuntivo

*****- fosfatase e homólogo de tensina

Tabela 01: microRNAs relacionados à DC.

Fonte: Autores, 2022.

Dentre os microRNAs, o *miR-155*, demonstrou ser o regulador principal de células hematopoiéticas, incluindo monócitos, macrófagos, células T e células B, afetando a expressão de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias (VIGORITO *et al.*, 2013). Este também é conhecido por desempenhar um importante papel na modulação imune contra algumas doenças parasitárias, na qual sua ausência causou parasitemia e diminuição da sobrevivência em camundongos infectados, sugerindo assim que este microRNA é imunoregulador para o controle da infecção pelo *T. cruzi* (JHA, 2020).

Além do *miR-155*, *miR-21* e *miR-146a* também são considerados importantes reguladores de diversos processos relacionados à patogênese de doenças cardiovasculares, incluindo proliferação/apoptose de células musculares lisas vasculares, crescimento/morte de células cardíacas e funções de fibroblastos cardíacos (CAO, SHI & G, 2017; DUYGU & MARTINS, 2015).

A superexpressão de *miR-21* e *miR-146a* foi observada no coração e no plasma de camundongos em ambas as fases da DC. Na fase aguda da doença foram encontrados *miR-21* e *miR-146a*, enquanto que na fase crônica foi encontrado apenas o *miR-146a* supra regulado, sugerindo potenciais biomarcadores para DC. Neste mesmo estudo foram identificados, através de análise funcional, onze genes alvos, os quais são membros da família SMAD5. Esta família de genes é mediadora na via de sinalização do TGF- β (NAVARRO *et al.*, 2015).

Recentemente foi relatado que o *mir-21* está associado com fibrose e resposta imune em camundongos cronicamente infectados com *T. cruzi*, e que o bloqueio deste microRNA em células com cardiomiopatia crônica é uma abordagem terapêutica promissora para a cardiomiopatia chagásica (NONAKA *et al.*, 2021).

Outro miRNA relacionado a DC, é o *miR-208a*, específico do coração que desempenha um papel crítico na disfunção cardíaca, levando à insuficiência cardíaca, pois, este microRNA por si só é o suficiente para induzir arritmias, remodelação cardíaca e regular a expressão de componentes da via de hipertrofia e do sistema de condução cardíaco (OLIVEIRA-CARVALHO, OLIVEIRA-CARVALHO & BOCCHI, 2013).

Além disso o *miR-208a* é também considerado um importante regulador no sistema de condução cardíaco, auxiliando na regulação da expressão de genes de miofibras de contração rápida e lenta no coração. Alguns estudos envolvendo a DC relatam uma maior expressão deste microRNA principalmente na fase crônica da doença (LACERDA *et al.*, 2018; BALLINAS-VERDUGO *et al.*, 2021; HUANG *et al.*, 2021).

Quanto ao *miR-190b*, por sua vez, este contribui negativamente para a sobrevivência de células infectadas pelo *T. cruzi* ao reprimir a expressão da proteína PTEN, quando comparado às células não infectadas, e demonstra também uma estreita conexão modulatória com o controle da expressão de PTEN, o que colabora com a viabilidade de células infectadas por *T. cruzi* (MONTEIRO *et al.*, 2015).

3 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos dados encontrados, percebe-se que os MicroRNAs desempenham diversas funções em um indivíduo acometido pela DC, desde a resistência à infecção como também na regulação de processos patológicos, principalmente cardíacos. Desta forma, compreender os mecanismos de ação dos MicroRNAs diante da patologia é fundamental para o entendimento da DC a nível molecular e consequentemente para o manejo da doença.

REFERÊNCIAS

ALVES D. F. *et al.* Método de diagnóstico para a doença de chagas: uma atualização. **Revista Brasileira de Análise Clínica**. v. 50, n. 4, p. 330-333, 2018.

ANNESE, T. *et al.* microRNAs biogenesis, functions and role in tumor angiogenesis. **Frontiers in Oncology**. v. 10, p. 581007, 2020.

ARRAIS. F. M. A. *et al.* Perfil entomológico da doença de Chagas no município de Potengi - CE, Brasil. **Saúde (Santa Maria)**. v. 45, n. 1, p. 1-13.

BALLINAS-VERDUGO, M. A. *et al.* Circulating miR-146a as a possible candidate biomarker in the indeterminate phase of Chagas disease. **Biological research**, v. 54, n. 1, p. 1-16, 2021.

BALLINAS-VERDUGO, M.A *et al.* Circulating miR-146a as a possible candidate biomarker in the indeterminate phase of Chagas disease. **Biological research**. v. 54, n. 21, 2021.

BARCELOS, Lucas Silva *et al.* Diagnóstico da doença de Chagas: Avaliação da reação cruzada em pacientes com leishmaniose visceral. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e55910414597-e55910414597, 2021.

BENJAMIN, R. J. *et al.* Trypanosoma cruzi infection in North America and Spain: evidence in support of transfusion transmission (CME). **Transfusion**, v. 52, n. 9, p. 1913-1921, 2012.

BRASIL, 2021. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico | Secretaria de Vigilância em Saúde | Ministério da Saúde. Especial Doença de Chagas | Abr. 2021.

BRASIL, 2022. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Secretarias Municipais de Saúde. Ministério da Saúde lança campanha para combater a transmissão da doença de Chagas no Brasil. Abr. 2022.

CARDOSO, M. S.; REIS-CUNHA, J. L.; BARTHOLOMEU, D. C. Evasion of the immune response by Trypanosoma cruzi during acute infection. **Frontiers in Immunology**, v. 6, p. 659, 2016.

CARVALHO, T. P. A. *et al.* A importância do diagnóstico precoce da doença de Chagas congênita. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**. v. 11, n. 4, p. e15111427077, 2022.

CAVATÃO, F. G. Padronização e validação da técnica de PCR em tempo real (qpcr) para a detecção e quantificação de *Trypanosoma cruzi* em sangue total. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Hospital das Clínicas de Porto Alegre, Análises Clínicas, Porto Alegre, 2022.

DA SILVA MACEDO G. P. *et al.* Revalidação do painel sorológico empregado na avaliação dos kits de diagnóstico da doença de Chagas. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**. v. 8, n. 4, p. 124-128, 2020.

DE MATTOS, E. C.; PEREIRA-CHIOCCOLA, V. L. Associação de métodos para detecção de *Trypanosoma cruzi* em alimentos. **BEPA. Boletim Epidemiológico Paulista**. v. 16, n. 189, 2019.

DE MIRANDA. Y. Situação atual: Diagnóstico laboratorial – situação atual. **Portal da Doença de Chagas**. v. 2, p. 7, 2017.

DE SOUSA, R. L. Doença de Chagas: uma atualização bibliográfica. **Revista Brasileira de Análise Clínica**. v. 51, n. 2, p. 103-06, 2019.

DIAS, J. C. P. Doença de Chagas e transfusão de sangue no Brasil: vigilância e desafios. *Rev. bras. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. v. 28(2), p. 81-87, 2006.

DUYGU, B; DA COSTA MARTINS, P. A. miR-21: a star player in cardiac hypertrophy. **Cardiovascular Research**. v. 105, n. 3, p. 235-237, 2015.

FARIAS, R. T. S; BRITO, D. M. C. B. (2020). O Açaí Como Referência Sociocultural Para Pensar, Refletir E Construir Conhecimentos Geográficos Nas Escolas Ribeirinhas Da Amazônia Brasileira. *Ciência Geográfica*, XXIV(2), 833-843.

FERNANDES A. L. B. *et al.* Doença de chagas no Brasil: panorama da incidência e prevalência entre os anos 2000 e 2013. **Brazilian Journal of Development**. v. 5, n. 10, p. 18200-18207, 2019.

FERREIRA A. M, *et al.* Reações adversas ao benzonidazol no tratamento da Doença de Chagas: revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados e controlados. **Caderno de saúde coletiva**. v. 27, n. 3, 2019.

FREITAS, N. E. M. Antígenos recombinantes quiméricos do *Trypanosoma cruzi* conjugados à peroxidase e sua avaliação como ferramenta diagnóstica da doença de Chagas crônica. Tese Doutorado. 2021.

GERES, L. F.; RABI, L. T.; BONATTI, T. R. A importância da vigilância epidemiológica no combate à Doença de Chagas: uma revisão integrativa. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**. v. 15, n. 1, p. e9492-e9492, 2022.

HUANG XH. *et al.* miR-208a em hipertrofia cardíaca e remodelação. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**. v. 8, p. 1 - 9, 2021.

IMPROTA-CARIA, A. C.; ARAS JÚNIOR, R. Physical Exercise Training and Chagas Disease: Potential Role of MicroRNAs. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 117, n. 1, p. 132-141, 2021.

JHA, B. K. *et al.* MicroRNA-155 deficiency exacerbates *Trypanosoma cruzi* infection. **Infection and Immunity**, v. 88, n. 7, p. e00948-19, 2020.

LIDANI K. C. F. *et al.* Chagas Disease: From Discovery to a Worldwide Health Problem. **Frontiers in Public Health**. v. 7, n. 166, p. 1 - 13, 2019.

LINHARES-LACERDA et al. Circulating Plasma MicroRNA-208a as Potential Biomarker of Chronic Indeterminate Phase of Chagas Disease. *Microbiology Journal - BMC Journal*. 2018.

LUQUETTI, A. O.; RASSI, A. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. ***Trypanosoma cruzi e Doença de chagas***, v. 2, p. 344 - 378, 2000.

MACFARLANE, L.-A.; MURPHY, P. R. MicroRNA: biogenesis, function and role in cancer. ***Current genomics***. v. 11, n. 7, p. 537-561, 2010.

MALTA, A. L. C.; JAQUES, U.; RODRIGUES, B. S. S. L. Atualizações sobre o diagnóstico, tratamento e epidemiologia da doença de chagas via oral no Brasil. ***Brazilian Journal of Development***. v. 8, n. 4, p. 26989-27009, 2022.

MARTIN-ESCOLANO J, MEDINA-CARMONA E, MARTIN-ESCOLANO R. Chagas Disease: Current View of an Ancient and Global Chemotherapy Challenge. ***ACS Infectious Diseases***. v.13;6(11), p. 2830-2843, 2020.

MEDINA, L. *et al.* Trypanosoma cruzi and Toxoplasma gondii induce a differential microRNA profile in human placental explants. ***Frontiers in immunology***. v. 11, p. 595250, 2020.

MONTEIRO *et al.* Mir-190b negatively contributes to the Trypanosoma cruzi-infected cell survival by repressing PTEN protein expression. ***Mem Inst Oswaldo Cruz***. v. (8), p. 996-10022015, 2015.

MORAES *et al.*, 2021. Doença de Chagas na Região Norte do Brasil: Análise dos casos no período de 2010 a 2019. ***Research, Society and Development***. v. 10, n. 5, e48210514193, 2021.

NAHAND, J. N. *et al.*“microRNAs: New prognostic, diagnostic, and therapeutic biomarkers in cervical cancer.” ***Journal of cellular physiology***. v. 234,10, p.17064-17099, 2019.

NAVARRO, I. C. et al. Perfil de MicroRNA Transcriptomo em Coração de Trypanosoma cruzi - Camundongos Infectados: Resultados Parasitológicos e Cardiológicos. ***PLOS Neglected Tropical Diseases***. 9(6): e0003828, 2015.

NONAKA, C. K. V. *et al.* Therapeutic miR-21 Silencing Reduces Cardiac Fibrosis and Modulates Inflammatory Response in Chronic Chagas Disease. ***International Journal of Molecular Sciences***. v. 22, n. 7, p. 3307, 2021.

OLIVEIRA-CARVALHO V, CARVALHO VO, BOCCHI EA. The emerging role of miR-208a in the heart. ***DNA and Cell Biology***. 2013 v.1, p. 8-12, 2013.

PARDINI, B. *et al.* MicroRNAs as markers of progression in cervical cancer: ao systematic review. ***BMC Cancer***. v. 18, n. 1, p. 696, 2018.

POLACHINI, R. *et al.* Avaliação da via das lectinas no soro de pacientes com doença de Chagas crônica pela detecção de C4 por Elisa. ***Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial***, v. 58, 2022.

SANTANA, R. A. G. *et al.* Transmissão oral do Trypanosoma cruzi, Amazônia brasileira. ***Doenças infecciosas emergentes***. v. 25, n. 1, p. 132, 2019.

SANTOS, D. R. *et al.* DOENÇA DE CHAGAS: UMA REVISÃO INTEGRATIVA. **Revista JRG de Estudos Acadêmicos**. v. 5, n. 10, p. 15, 2022.

SANTOS, E. F. *et al.* Doença de Chagas aguda no Brasil de 2001 a 2018: uma análise espaço-temporal nacional. **PLoS doenças tropicais negligenciadas**. v. 14, n. 8, p. e0008445, 2020.

TURCINSKI, B.; FELIX, E. G.; ITO, K. J. A. As perspectivas de tratamento para a doença de Chagas: revisão da literatura. 2021.

VIGORITO E, KOHLHAAS S, LU D, LEYLAND R. miR-155: an ancient regulator of the immune system. **Journal Of Clinical Immunology-BMC**. v. 253(1), p. 146-57, 2013.

WINKLE M. *et al.* Terapêutica de RNA não codificante - desafios e soluções potenciais. **Nature reviews drug discovery**. p. 629 - 651, 2021.

WOLLSCHIED, E. L. *et al.* Panorama da doença de chagas e tendências na sua transmissão vertical. **Cadernos Técnicos de Saúde da FASEH**, v. 2, p. 31, 2016

ZANG *et al.* Association between circulating microRNA-208a and severity of coronary heart disease. **Revista Escandinava de Investigação Clínica e Laboratorial**. v.78, n.3, p.219-223, 2018.

SOBRE O ORGANIZADOR

BENEDITO RODRIGUES DA SILVA NETO - Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso (2005), com especialização na modalidade médica em Análises Clínicas e Microbiologia (Universidade Candido Mendes - RJ). Em 2006 se especializou em Educação no Instituto Araguaia de Pós graduação Pesquisa e Extensão. Obteve seu Mestrado em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto de Ciências Biológicas (2009) e o Doutorado em Medicina Tropical e Saúde Pública pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (2013) da Universidade Federal de Goiás. Pós-Doutorado em Genética Molecular com concentração em Proteômica e Bioinformática (2014). O segundo Pós doutoramento foi realizado pelo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde da Universidade Estadual de Goiás (2015), trabalhando com o projeto Análise Global da Genômica Funcional do Fungo *Trichoderma Harzianum* e período de aperfeiçoamento no Institute of Transfusion Medicine at the Hospital Universitätsklinikum Essen, Germany. Seu terceiro Pós-Doutorado foi concluído em 2018 na linha de bioinformática aplicada à descoberta de novos agentes antifúngicos para fungos patogênicos de interesse médico. Palestrante internacional com experiência nas áreas de Genética e Biologia Molecular aplicada à Microbiologia, atuando principalmente com os seguintes temas: Micologia Médica, Biotecnologia, Bioinformática Estrutural e Funcional, Proteômica, Bioquímica, interação Patógeno-Hospedeiro. Sócio fundador da Sociedade Brasileira de Ciências aplicadas à Saúde (SBCSaúde) onde exerce o cargo de Diretor Executivo, e idealizador do projeto “Congresso Nacional Multidisciplinar da Saúde” (CoNMSaúde) realizado anualmente, desde 2016, no centro-oeste do país. Atua como Pesquisador consultor da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Goiás - FAPEG. Atuou como Professor Doutor de Tutoria e Habilidades Profissionais da Faculdade de Medicina Alfredo Nasser (FAMED-UNIFAN); Microbiologia, Biotecnologia, Fisiologia Humana, Biologia Celular, Biologia Molecular, Micologia e Bacteriologia nos cursos de Biomedicina, Fisioterapia e Enfermagem na Sociedade Goiana de Educação e Cultura (Faculdade Padrão). Professor substituto de Microbiologia/Micologia junto ao Departamento de Microbiologia, Parasitologia, Imunologia e Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás. Coordenador do curso de Especialização em Medicina Genômica e Coordenador do curso de Biotecnologia e Inovações em Saúde no Instituto Nacional de Cursos. Atualmente o autor tem se dedicado à medicina tropical desenvolvendo estudos na área da micologia médica com publicações relevantes em periódicos nacionais e internacionais.

ÍNDICE REMISSIVO

A

A. aegypti 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 54, 57, 58, 59

Água 23, 43, 44, 45, 47, 57, 60, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75

Água ambiental 65, 67, 71

Análisis sensorial 1, 5, 7

B

Bacteriologia 65, 76, 77, 83, 97

C

Conservante 20, 22, 23, 25, 27

Controle 14, 23, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 75, 83, 88, 89, 90, 91, 92

Culantro de pozo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9

D

Diagnóstico clínico 76, 77

Distrito Federal 39, 40, 41, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64

Doença de Chagas 84, 86, 87, 88, 89, 91, 93, 94, 95, 96

Doenças parasitárias 84, 85, 86, 92

E

Eryngium foetidum L 1, 2, 3, 9, 10

Extrato de *Punica granatum* 12, 17

F

Fitoterápicos 12, 17

G

Gastroenterites 65, 73

Grasa 1, 3, 6, 8, 9, 10

I

Inoculante 19, 20, 24, 30, 31, 33, 34, 38

M

Mayonesa de soya 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9

Microorganismo 13, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 78, 82

N

ncRNAs 84, 85, 89

P

Proteômica 76, 78, 81, 82, 83, 97

R

Resistência bacteriana 12, 13, 17, 18

V





Vírus 15, 42, 60, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75



MICROBIOLOGIA:

Avanços através dos séculos e constante atualizações tecnológicas

2



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

The background of the entire cover is a microscopic view of various bacteria, primarily rod-shaped, in shades of cyan and blue. The bacteria are in focus and out of focus, creating a sense of depth.

MICROBIOLOGIA:

Avanços através dos séculos e constante atualizações tecnológicas

2

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