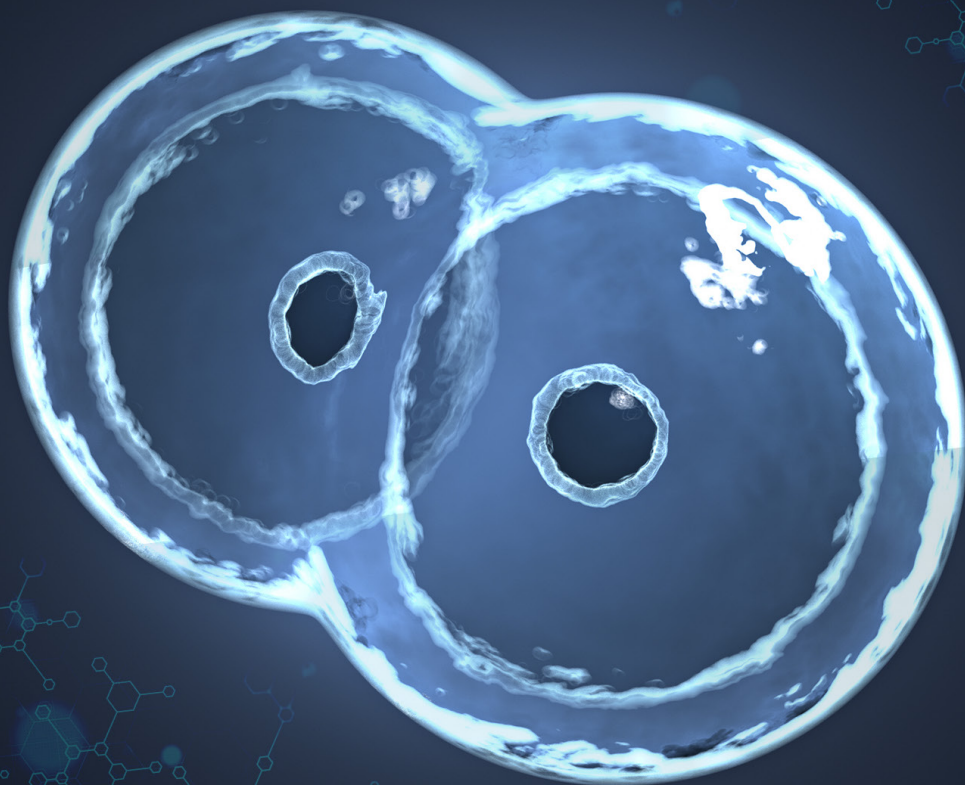


BENEDITO RODRIGUES DA SILVA NETO  
(ORGANIZADOR)

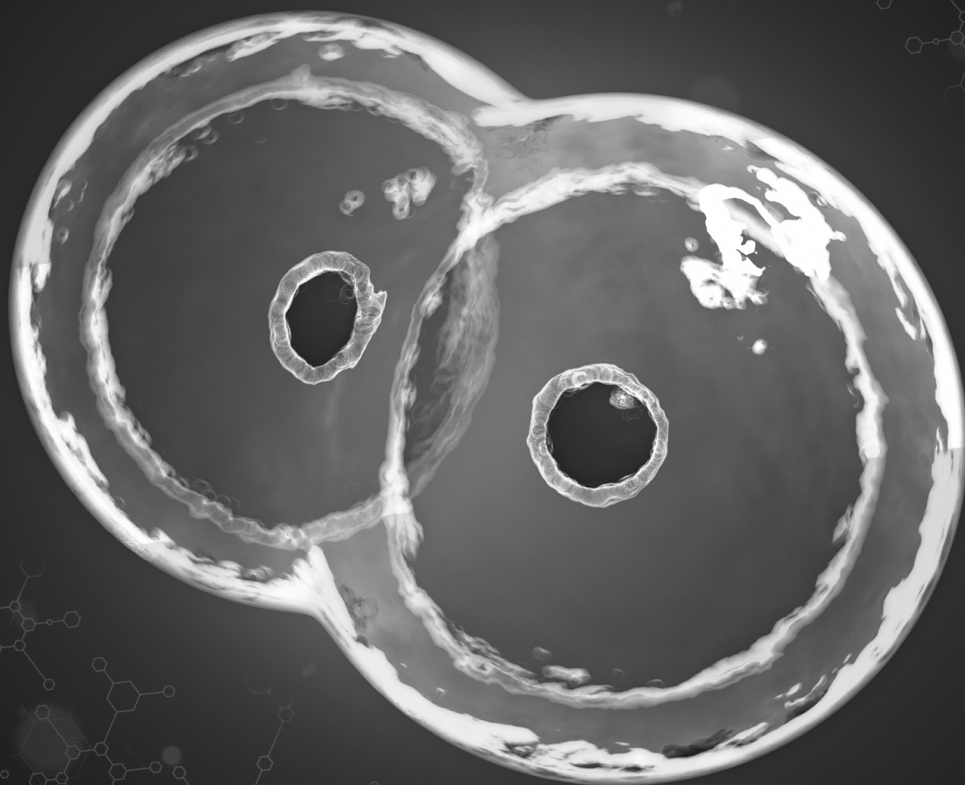
# A MICROBIOLOGIA NA CONTEMPORANEIDADE



**Atena**  
Editora  
Ano 2023

BENEDITO RODRIGUES DA SILVA NETO  
(ORGANIZADOR)

# A MICROBIOLOGIA NA CONTEMPORANEIDADE



**Atena**  
Editora

Ano 2023

**Editora chefe**

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Editora executiva**

Natalia Oliveira

**Assistente editorial**

Flávia Roberta Barão

**Bibliotecária**

Janaina Ramos

**Projeto gráfico**

Camila Alves de Cremona

Ellen Andressa Kubisty

Luiza Alves Batista

Nataly Evilin Gayde

**Imagens da capa**

iStock

**Edição de arte**

Luiza Alves Batista

2023 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2023 Os autores

Copyright da edição © 2023 Atena

Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena

Editora



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

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

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

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

**Conselho Editorial**

**Ciências Biológicas e da Saúde**

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

Profª Drª Ana Beatriz Duarte Vieira – Universidade de Brasília

Profª Drª Ana Paula Peron – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

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

Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas

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

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Camila Pereira – Universidade Estadual de Londrina  
 Prof. Dr. Cirênio de Almeida Barbosa – Universidade Federal de Ouro Preto  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Danyelle Andrade Mota – Universidade Tiradentes  
 Prof. Dr. Davi Oliveira Bizerril – Universidade de Fortaleza  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão  
 Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
 Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira  
 Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco  
 Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras  
 Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
 Prof. Dr. Guillermo Alberto López – Instituto Federal da Bahia  
 Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco  
 Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande  
 Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará  
 Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Delta do Parnaíba – UFDPAr  
 Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte  
 Prof. Dr. José Aderval Aragão – Universidade Federal de Sergipe  
 Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Kelly Lopes de Araujo Appel – Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Larissa Maranhão Dias – Instituto Federal do Amapá  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Livia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luciana Martins Zuliani – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
 Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
 Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará  
 Prof. Dr. Maurilio Antonio Varavallo – Universidade Federal do Tocantins  
 Prof. Dr. Max da Silva Ferreira – Universidade do Grande Rio  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte  
 Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá  
 Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados

Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino

Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora

Profª Drª Sheyla Mara Silva de Oliveira – Universidade do Estado do Pará

Profª Drª Suely Lopes de Azevedo – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Taísa Ceratti Treptow – Universidade Federal de Santa Maria

Profª Drª Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade do Vale do Sapucaí

Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Profª Drª Welma Emidio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco

## A microbiologia na contemporaneidade

**Diagramação:** Ellen Andressa Kubisty  
**Correção:** Yaiddy Paola Martinez  
**Indexação:** Amanda Kelly da Costa Veiga  
**Revisão:** Os autores  
**Organizador:** Benedito Rodrigues da Silva Neto

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)</b>	
M626	A microbiologia na contemporaneidade / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2023.  Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-65-258-1529-9 DOI: <a href="https://doi.org/10.22533/at.ed.299231107">https://doi.org/10.22533/at.ed.299231107</a>  1. Microbiologia. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da (Organizador). II. Título.  CDD 579
<b>Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166</b>	

**Atena Editora**  
Ponta Grossa – Paraná – Brasil  
Telefone: +55 (42) 3323-5493  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## DECLARAÇÃO DOS AUTORES

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

## DECLARAÇÃO DA EDITORA

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



O estudo da microbiologia como ciência iniciou-se a mais de 200 anos, e durante todo esse período estabeleceu uma vasta influência no desenvolvimento da humanidade. Por definição, como ciência básica, a microbiologia utiliza células microbianas para analisar os processos fundamentais da vida, já como ciência aplicada ela é praticamente a linha de frente de avanços importantes na medicina, agricultura e na indústria.

Dentre todas as influências e avanços ao longo destes anos podemos destacar os avanços na área molecular, como a descoberta do DNA, que elevaram a um novo nível os estudos desse contexto, abrindo novas frentes de pesquisa e estudo, principalmente com as ferramentas da engenharia genética. Inúmeros trabalhos e metodologias se consolidaram nesse sentido, possibilitando não apenas a acurada investigação à nível microbiológico, mas consequentemente a obtenção de produtos advindos destas pesquisas.

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. Portanto por intermédio da obra “A Microbiologia na contemporaneidade” pretendemos abordar o tema correlacionando a evolução ao longo dos últimos anos com as bases fundamentais desta área científica.

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

**CAPÍTULO 1 ..... 1****CORONOFOBIA: UM INIMIGO “INVISÍVEL”**

Gabrieli R. Castro

Eliziane T. S. Braz

Gercilene C. Silveira

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.2992311071>**CAPÍTULO 2 ..... 6****ASPECTOS ECONÔMICA E FITOSSANITÁRIOS NA CULTURA DO COENTRO NO BRASIL**

Maria Jussara dos Santos da Silva

Jaqueline Figueredo de Oliveira Costa

Jackeline Laurentino da Silva

Taciana Ferreira dos Santos

Cecília Hernandez Ramirez

Tiago Silva Lima

Iraídes Pereira Assunção

Gaus Silvestre Andrade Lima


 <https://doi.org/10.22533/at.ed.2992311072>**CAPÍTULO 3 .....20****PESQUISA DE FUNGOS EM PLANTAS MEDICINAIS SECAS COMERCIALIZADAS EM LOJAS DE PRODUTOS NATURAIS**

Lucas Tadeu Paz Oliveira

Vanessa Leodino de Barros

Eliane Costa Souza

Fabiana Palmeira Melo Costa

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.2992311073>**CAPÍTULO 4 .....28****RESEARCH, EXTRACTION AND PARTIAL CHARACTERIZATION OF ANTAGONIST SUBSTANCE BACTERIOCIN-LIKE PRODUCED BY *FUSOBACTERIUM NECROPHORUM***

Jaqueline Silvana Moreira


Carolina Araújo Vieira

Maria Auxiliadora Roque de Carvalho

Carolina Nicolai Valeff

Paula Prazeres Magalhães


Luiz de Macêdo Farias

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.2992311074>**CAPÍTULO 5 .....45****QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DE RESIDÊNCIAS LOCALIZADAS NO MUNICÍPIO DE SATUBA/AL**

Laissa Cibele Silva Lins

Letícia Maria Cirilo da Silva

Eliane Costa Souza


 <https://doi.org/10.22533/at.ed.2992311075>

**CAPÍTULO 6 .....52**

SÍNTESE DE TRIAZOL COM PROPRIEDADE ANTIBACTERIANA

Alcino Palermo Aguiar

Victor Hugo Vimercate Silva Oliveira


 <https://doi.org/10.22533/at.ed.2992311076>

**CAPÍTULO 7 .....70**

TRANSPIRAÇÃO, BACTÉRIAS CAUSADORAS DE MAUS ODORES E  
DESODORANTES ANTITRANSPIRANTES COM NANOPARTÍCULAS PARA A  
REDUÇÃO DO MAL ODOR NAS AXILAS: REVISÃO

Lucília Carolina Vardenski Costa

Lígia Alves da Costa Cardoso

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.2992311077>

**SOBRE O ORGANIZADOR .....80**

**ÍNDICE REMISSIVO ..... 81**

## CORONOFOBIA: UM INIMIGO “INVISÍVEL”

*Data de aceite: 03/07/2023*

**Gabrieli R. Castro**

**Eliziane T. S. Braz**

**Gercilene C. Silveira**

### INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2019, na província de Wuhan, na China, amostras de secreção do trato respiratório dos pacientes doentes por uma pneumonia de causa desconhecida, toma foco mundial. Em sete de janeiro de 2020, cientistas chineses já haviam isolado o novo coronavírus (CoV) em pacientes na cidade (WANG et al., 2020).

A Organização Mundial de Saúde (OMS), denomina a doença provocada pelo 2019-nCov da COVID-19 como uma pandemia em 11 de março de 2020. O surto sobre um novo vírus altamente transmissível dominou as manchetes em todo o mundo. Isso não é surpreendente. O coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV), é um vírus de alta

transmissibilidade, com provável origem em morcegos. Sua propagação ocorre por gotículas respiratórias e por procedimentos geradores de aerossóis, como a intubação orotraqueal, e também como o contato físico de objetos contaminados. A partir da contaminação, indivíduos assintomáticos e sintomáticos podem transmitir a doença, sendo assim, um inimigo invisível (BRASIL, 2020).

A falta de informação e desinformação a respeito da COVID-19 e seus tratamentos, com auxílio de manchetes e fotos sensacionalistas da mídia popular, alimentou medos e fobias relacionados à saúde da população. (TAYLOR; ASMUNDSON, 2004).

A partir das circunstâncias que a pandemia trouxe consigo, como as medidas extremas de proteção e precaução, é evidente a importância do cuidado com a saúde mental, pois o COVID-19 mexeu bruscamente com as rotinas diárias, tanto de trabalho, quanto acadêmicas, devido ao isolamento social - usado para a diminuição dos riscos de

contágio, que eram altíssimos, e por conta disso foi prorrogado por meses - que fez muitas pessoas que tinham predisposição para desenvolver transtornos mentais entrassem em crises, de ansiedade, depressão, pânico e/ou insônia (HO et al., 2020). É nítido o quanto ter que lidar com cargas emocionais elevadas, presenciar uma espécie de colapso e falta de organização da saúde pública no Brasil serviu para piorar a situação.

Como estratégia, a quarentena é muito usada e teoricamente eficaz, poderia ter evitado os números exacerbados de contágios e óbito, se tivesse sido seguida corretamente e com o suporte de políticas públicas competentes. Da mesma forma, a falta de preparo e conhecimento sobre o método, fez com que a população entrasse em choque com a nova realidade. Lidar com o afastamento dos amigos e familiares, sem poder manter contato por longos períodos, exigiu o desenvolvimento de outras saídas, como por exemplo a compulsão por compras on-line e o consumo de substâncias químicas, mesmo com toda tensão econômica, também provocada pela pandemia. Em contraponto, a obrigatoriedade do convívio familiar, a pressão de se manter seguro e preservar a família e os amigos do contágio, inclusive ajudou a desencadear inúmeros casos de transtornos relacionados à saúde mental e também o aumento de violência doméstica. (BARROS et al, 2020)

Outro fator que favoreceu o desencadeamento de prejuízos e sofrimento psíquico foi a defasagem na comunicação, a ambiguidade das informações compartilhadas pela mídia que fortaleceu o estresse, o aumento da ansiedade e medo em relação ao futuro. Assim como a adesão das estratégias de diminuir a disseminação do vírus, muitas pessoas que não entenderam ou não quiseram seguir as ordens de isolamento tiveram que lidar com o contágio e possíveis sequelas e perdas de pessoas próximas, do mesmo modo que fez os serviços de saúde se sobrecarregarem para dar conta de inúmeros casos e internações (FARO, 2020).

## **METODOLOGIA**

A elaboração do presente estudo teve como matéria a análise de artigos acessíveis em banco de dados como SciELO e PubMed.

Com abordagem qualitativa e o levantamento de dados a partir da busca em literatura, foi empregado a busca por estudos a partir de 2019, especificamente no mês de dezembro onde houve o surgimento de notícias e recentes estudos sobre SARS-CoV-2, visando os efeitos psicológicos do vírus ao isolamento social.

O levantamento de dados teve como descritores as palavras-chave: Coronaphobia; ansiedade; fear; mental healthy.

Foram encontrados 18 artigos na base de dados SciELO e Pubmed, destes, 5 artigos foram excluídos por não abordarem o tema proposto, desse modo, foram admitidos para a leitura dos resumos um total de 13 artigos, no qual 3 não atingiram o objetivo proposto. Assim sendo selecionados para a revisão bibliográfica um total de 10 artigos (8 na língua

inglesa e 2 na língua portuguesa) que foram lidos criteriosamente na íntegra. (Figura 1).

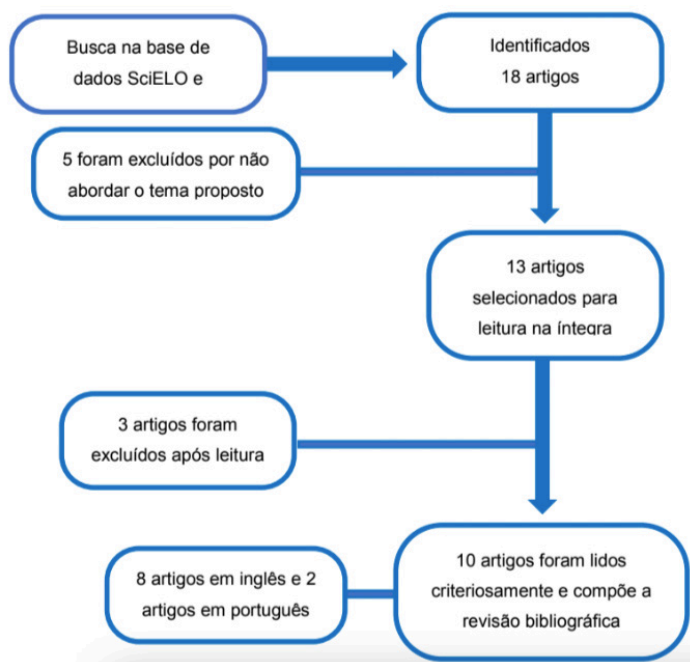


Figura 1. Fluxograma do processo de seleção dos artigos revisão na íntegra. Jaú, SP, 2021

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

A partir dessa pesquisa, foi possível constatar a dificuldade de encontrar trabalhos relacionados à coronofobia, principalmente por ser um acontecimento novo e totalmente inesperado. Porém, através dos artigos encontrados, entende-se que a pandemia desencadeou desde o medo de contrair a doença, transmiti-la às pessoas próximas em virtude dos sintomas assintomáticos, receio das possíveis sequelas, angústia de não saber o que se sucederá, temor e estresse referentes a algo desconhecido e sem a certeza do seu fim, facilitando o desenvolvimento de crenças irrealis e disfuncionais (ARORA et al., 2020).

Ainda de acordo com os trabalhos encontrados, é possível enxergar as exigências que a pandemia trouxe semeando a insegurança e desestabilizando o convívio interpessoal, assim como, exigindo a atenção plena e desenvolvimento de mecanismos para adaptação para esse novo contexto. Conforme as, é de suma importância a busca por estratégias de enfrentamento, intervenções comportamentais, para que as pessoas consigam se adaptar às mudanças que essa crise que instaurou, tal como lidar com o desconforto de ter que se reestruturar com o “novo normal” (LEE et al, 2020).

Barros (2020) afirma que a relevância dos aspectos emocionais perante a pandemia

tem levado muitos autores a identificar uma pandemia do medo, assim como o termo coronofobia, que tem sido usada por muitos psiquiatras e psicólogos para designar a ansiedade e o medo de contrair COVID-19. Essas designações mostram que a pandemia não trouxe apenas problemas relacionados aos aspectos biológicos da doença, mas também danos a economia e ao bem-estar da população, especialmente no aspecto psicológico.

Nesse contexto, pode-se dizer que os profissionais da saúde são os que mais sofreram com a desorganização da saúde pública e com as notícias falsas via jornal impresso, televisão, rádio ou nas mídias sociais, com as chamadas “fake news”, do mesmo modo que, números absurdos de casos de infectados e internações, trouxeram jornadas de trabalho dobradas, com escassez de equipamentos de proteção, assim como a pressão de lidar com frequentes óbitos todos os dias, sem ter tempo de lidar com o luto, devido a demanda gigantesca e ao mesmo tempo tendo que cuidar de si para não contrair o vírus, nem o transmitir, trouxeram sofrimento aos profissionais da saúde (ELBAY et al, 2020)

Segundo Nabuco; Oliveira; Afonso (2020), o medo (assim como a fobia) de contrair COVID-19 tem estado tão presente na vida dos profissionais de saúde que muitos lidam com a angústia e a sensação de incapacidade relacionada à limitação quanto a infectar seus familiares e pacientes saudáveis.

A fobia, segundo o DSM-V (American Psychiatric Association, 2014), se desenvolve a partir de eventos traumáticos que levam a ansiedades e medos desproporcionais ao evento real, caracterizada por comportamentos de evitação e segurança comportamental. Perante todo esse contexto atual de pandemia, são notáveis os comportamentos relacionados a fobia, desde cuidados excessivos, evitar a todo custo sair de casa, comportamentos negativos, depressivos e mais profundamente, ideações suicidas, assim como tornou grande parte da população inábil socialmente. A angústia, medo e o sofrimento psíquico advindos da Covid-19 e principalmente a evitação do contato humano, podem ser associados diretamente a Coronofobia, esta, que possui forte influência no bem-estar psicológico (LEE et al, 2020; EBAY et al, 2020).

## CONCLUSÃO

O presente estudo teve como objetivo discutir uma lacuna na resposta da saúde mental junto a crescente crise de saúde pública, a pandemia de COVID-19, na qual as mudanças na vida diária da população mundial desencadearam problemas ao bem-estar mental, onde a ansiedade, o medo da contaminação, a propagação de Fake News, a falta de credibilidade no sistema público de saúde e as incertezas sobre o prolongamento do isolamento social tem tomado força, tornando negligenciado o estado mental da população.

Dado o que foi exposto, é de suma importância a atenção a saúde mental a população, sabendo a intensificação de transtornos mentais relacionados a pandemia, sendo fundamental a busca por auxílio psicológico.

## REFERÊNCIAS

ARORA, Alisha et al. Understanding coronaphobia. **Asian Journal of Psychiatry**, v. 54, p. 102384, 2020. Disponível em <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1876201820304974>. Acesso em 19 de set. de 2021.

BARROS, M. B. de A. et al. Relato de tristeza/depressão, nervosismo/ansiedade e problemas de sono na população adulta brasileira durante a pandemia de COVID-19. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 29, p. e2020427, 2020. Disponível em: <https://www.scielo.org/article/ress/2020.v29n4/e2020427/pt/>. Acesso em 18 de set de 2021.

ELBAY, R. Y. et al. Depression, anxiety, stress levels of physicians and associated factors in Covid-19 pandemics. **Psychiatry research**, v. 290, p. 113130, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165178120312038>. Acesso em 18 de set de 2021

FARO, André et al. COVID-19 e saúde mental: a emergência do cuidado. **Estudos de Psicologia (Campinas)**, v. 37, 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/estpsi/a/dkxZ6QwHRPhZLsR3z8m7hvF/?lang=pt&format=html>. Acesso em 12 de set de 2021.

Gordon J. G. Asmundson, Steven Taylor. Coronaphobia: fearandthe 2019-nCov outbreak [JournalofAnxietyDisorders]. 2020; vol. 1.

Ho, C., Chee, C., & Ho, R. (2020). Mental health strategies to combat the psychological impact of COVID-19 beyond paranoia and panic. *Annals Academy Medical of Singapore*, 49(3), 1-3. Disponível em: [http://www.annals.edu.sg/pdf/special/COM20043\\_HoCSH\\_2.pdf](http://www.annals.edu.sg/pdf/special/COM20043_HoCSH_2.pdf)

LEE, S. A. et al. Incremental validity of coronaphobia: Coronavirus anxiety explains depression, generalized anxiety, and death anxiety. **Journal of anxiety disorders**, v. 74, p. 102268, 2020. Disponível em <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0887618520300827> Acesso em 19 set de 2021.

Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Recomendações de proteção aos trabalhadores dos serviços de saúde no atendimento da COVID-19 e outras síndromes gripais. [internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2020 [cited 2020 Mai 5]. Disponível em: <https://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2020/Abril/16/01-recomendacoes-de-protecao.pdf>

Wang C, Horby PW, Hayden FG, Gao GF. A novel coronavirus outbreak of global health concern. The lancet [Internet]. 2020 Feb 15 [cited 2020 Apr 29];395. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31986257>.



# ASPECTOS ECONÔMICA E FITOSSANITÁRIOS NA CULTURA DO COENTRO NO BRASIL

Data de aceite: 03/07/2023

**Maria Jussara dos Santos da Silva**

Campus de Engenharias e Ciências  
Agrárias/ Universidade Federal de Alagoas  
<https://orcid.org/0000-0001-9418-854X>

**Jaqueline Figueredo de Oliveira Costa**

Campus de Engenharias e Ciências  
Agrárias/ Universidade Federal de Alagoas  
<https://orcid.org/0000-0003-0121-699X>

**Jackeline Laurentino da Silva**

Campus de Engenharias e Ciências  
Agrárias/Universidade Federal de Alagoas  
<https://orcid.org/0000-0002-9870-3673>

**Taciana Ferreira dos Santos**

Campus de Engenharias e Ciências  
Agrárias/ Universidade Federal de Alagoas  
<https://orcid.org/0000-0002-6040-8353>

**Cecília Hernandez Ramirez**

Campus de Engenharias e Ciências  
Agrárias/Universidade Federal de Alagoas  
<https://orcid.org/0000-0002-8639-0470>

**Tiago Silva Lima**

Campus de Engenharias e Ciências  
Agrárias/ Universidade Federal de Alagoas  
<https://orcid.org/0000-0003-0882-2677>

**Iraíldes Pereira Assunção**

Campus de Engenharias e Ciências  
Agrárias/ Universidade Federal de Alagoas

<https://orcid.org/0000-0001-5087-0168>

**Gaus Silvestre Andrade Lima**

Campus de Engenharias e Ciências  
Agrárias/Universidade Federal de Alagoas  
<https://orcid.org/0000-0003-2910-5896>

**RESUMO:** O cultivo do coentro é uma atividade consolidada entre os produtores rurais da região nordeste do Brasil. No entanto, um dos fatores limitantes para a produção é a incidência de doenças ocasionadas, principalmente, por patógenos veiculados pelo solo, causando sérios problemas de redução de estande, em decorrência do *damping-off* ou tombamento de plântulas. Estudos vem demonstrando que o *damping-off* no coentro está associado aos gêneros *Pythium*, *Rhizoctonia* e *Fusarium*. Porém, as espécies do gênero *Fusarium* estão com maior prevalência nas áreas de plantio da cultura no Brasil. Deste modo, é importante ter conhecimento sobre o agente etiológico da doença para o desenvolvimento de técnicas adequadas de controle. Diante disso, é fornecido uma breve revisão sobre a cultura do coentro levando em considerações alguns aspectos importantes sobre a importância econômica,

os aspectos botânicos, o *damping-off* e o gênero *Fusarium*.

**PALAVRAS-CHAVE:** Multi-locus; *Coriandrum sativum*; Fungos; Plântulas.

## ECONOMIC AND PHYTOSANITARY ASPECTS IN CORIANDER CULTURE IN BRAZIL

**ABSTRACT:** The cultivation of coriander is a consolidated activity among rural producers in the northeast region of Brazil. However, one of the limiting factors for production is the incidence of diseases caused, mainly, by pathogens transmitted by the soil, causing serious problems of reduced stand, due to *damping-off* or overturning off of seedlings. Studies have shown that *damping-off* in coriander is associated with the genera *Pythium*, *Rhizoctonia* and *Fusarium*. However, the species of the genus *Fusarium* are more prevalent in the areas where the crop is planted in Brazil. Thus, it is important to have knowledge about the etiological agent of the disease for the development of appropriate control techniques. In view of this, a brief review of coriander culture is provided, taking into account some important aspects of economic importance, botanical aspects, *damping-off* and the *Fusarium* genus.

**KEYWORDS:** Multilocus; *Coriandrum sativum*; fungi; seedlings.

### INTRODUÇÃO

O coentro (*Coriandrum sativum* L.) é originário da região leste do Mediterrâneo e Sul da Europa (NADEEM et al. 2013). É uma planta herbácea da família Apiaceae e se adapta bem aos climas quentes. Em geral, é cultivada durante todo o ano por muitos produtores, exercendo um papel social importante, principalmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil (WANDERLEY, 2008). Seu cultivo visa, principalmente, a obtenção de massa verde e da extração do óleo essencial, que são utilizados na culinária como ingredientes para dar sabor a diversos pratos (OLIVEIRA et al. 2007).

No Brasil, a maior parte da produção vem da agricultura familiar, e a cultura se destaca devido à grande importância econômica e social, gerando renda para diversas famílias (JOLY, 2002). Segundo o último Censo Agropecuário em que a cultura estava inserida, a região Nordeste é responsável por mais da metade da produção nacional (IBGE, 2006).

Nos estados do Nordeste, onde o coentro é cultivado, tem sido verificada uma elevada incidência da doença *damping-off* ou tombamento de plântulas e o problema é agravado em épocas chuvosas, inviabilizando o cultivo em muitas áreas de plantio (INFANTE et al. 2018).

O *damping-off* é causado por um grupo de patógenos que estão presentes no solo e que incidem sobre tecidos vegetais jovens e sementes recém-plantadas (AMORIM, 2018). Os principais sintomas observados na região do colo da plântula são escurecimento dos tecidos e perda da rigidez, nas sementes observa-se uma decomposição, tornando-as inviáveis para germinação (INFANTE, 2016; MARTINS et al. 2022). Estudos têm

demonstrado que o damping-off no coentro está associado aos gêneros *Pythium*, *Rhizoctonia* e *Fusarium* sendo as espécies do gênero *Fusarium* com maior prevalência nas áreas de plantio (INFANTE, 2016).

O gênero *Fusarium* é composto por aproximadamente 1500 nomes de táxons dentre as categorias de espécies, subespécies e *formae speciales*, sendo este um dos mais importantes fitopatógenos por causar doenças em diversas culturas de interesse agrônomo (LESLIE; SUMMERELL, 2006), incluindo a cultura do coentro (LESSY et al. 2022). Para caracterização e identificação das espécies desse gênero é empregado técnicas microscópicas, baseadas na observação da morfologia de estruturas reprodutivas, e características fisiológicas (NELSON et al. 1983; LESLIE; SUMMERELL, 2006), juntamente com a utilização de técnicas moleculares que ajudaram no correto posicionamento taxonômico das espécies, utilizando principalmente regiões genômicas como: RNA polimerase subunidade II (RPB2) e fator de alongamento (TEF-1 $\alpha$ ) (LESLIE; SUMMERELL, 2006; O'DONNELL et al. 2010).

Assim, esta revisão fornece informações sobre a importância e sintomatologia do *damping-off* na cultura do coentro. Bem como, mostramos as técnicas de identificação empregadas atualmente para a separação das espécies do gênero *Fusarium*.

## CULTURA DO COENTRO

O coentro é nativo da região Leste do Mediterrâneo e sul da Europa, mais especificamente dos continentes Africano e Europeu (SANTOS, 2016). A introdução das hortaliças no Brasil, e dentre elas o coentro, se deu por volta de 1549 com a chegada dos Padres da Companhia de Jesus, tornando-se incalculável a contribuição dos jesuítas com relação a difusão do cultivo e do consumo de hortaliças no país (MADEIRA; REIFSCHNEIDER; GIORDANO, 2008).

No Brasil, segundo dados do Registro Nacional de Cultivares (RNC) no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) existem aproximadamente 58 cultivares de coentro registradas, podendo ser classificadas em precoces e tardias (MAPA, 2022). As variedades precoces são mais adaptadas ao clima tropical e apresentam fase vegetativa variando entre 30 e 45 dias, como a cultivar “Verdão”, “Palmeira” e “Tabocas” (DINIZ, 2012). No entanto, as variedades tardias adaptam-se melhor ao clima subtropical ou temperado e possui fase vegetativa em torno de 50 a 60 dias, e entre as representantes deste grupo destacam-se a “Português”, “Asteca”, “Americano Gigante” e “Tapacurá” (MARI, 2009).

Na região Nordeste do Brasil a cultivar mais plantada e comercializada, segundo os produtores é a “Verdão” (SANTOS, 2009; DINIZ, 2012), desenvolvida por volta da década de 1980, através do cruzamento de várias linhagens da cultivar “Palmeira” e de seleções realizadas durante vários ciclos. As principais características dessa cultivar são folhagens robustas, de coloração verde escura brilhante, possui altura média de 30 a 40 cm, tolerância

média ao pendramento precoce, se adapta bem as condições edafoclimáticas da região.

A cultivar “Verdão” ainda apresenta boa resistência a doenças da parte aérea como: a queima das folhas causada por *Alternaria dauci* e a doença cercosporiose, causada por espécies do gênero *Cercospora* e com maior tempo de prateleira na pós-colheita (ISLA SEMENTES, 2003; OLIVEIRA et al. 2015). Por ser uma variedade precoce, apresenta ponto de colheita em torno de 30 a 40 dias após o plantio, sendo considerada uma cultura de ciclo rápido e podendo ser comercializada durante todo o ano (HORTIVALE, 2011). Desenvolve-se bem em regiões de clima quente, solos com boa fertilidade e drenagem, profundos e com exposição à luz (VAZ et al. 2007).

## 1 | ASPECTOS BOTÂNICOS DO COENTRO

O coentro é uma planta herbácea de ciclo anual, possui raízes do tipo pivotante com formato fusiforme; o caule é ereto de coloração verde (pode vir a se tornar violeta na época da floração), cilíndrico e ramificados na sua parte superior podendo alcançar uma altura de 30 a 60 cm (LOPES, 2014). Suas folhas são alternadas compostas, as flores são pequenas, actinomorfas e hermafroditas com coloração branca ou rósea (PRACHAYASITTIKUL et al. 2018). Suas inflorescências são do tipo umbela composta e possuem de 7 a 8 flores por inflorescência (LOPES, 2014). A floração dá início com as flores periféricas de cada umbela, sendo as centrais muitas vezes estéreis (LOPES, 2014). As flores são pequenas e hermafroditas, com coloração podendo variar de brancas a levemente rosadas (DIEDERICHSEN, 1996).

As sementes/frutos são do tipo diaquénio (duas sementes) de formato elipsoidal ou globosas, pequenas e secas, apresentando coloração amarelo castanho quando maduro com dimensão variando de 1,5 a 5 mm de diâmetro (EPPINGER; HOFMANN, 2008). A principal forma de propagação do coentro é através das sementes (SANTOS, 2016). A germinação ocorre entre 5 e 10 dias, dependendo da variedade e, após 40 dias a maioria das cultivares atingem o máximo do seu desenvolvimento vegetativo. Logo em seguida inicia o período reprodutivo, as plantas se tornam mais fibrosas e as folhas mais finas, dando início a floração (GUSMÃO; GUSMÃO, 2007; LOPES, 2014).

## 2 | IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DO COENTRO

O coentro é uma olerícola que é usada tradicionalmente em todo mundo (SAHIB et al. 2013). Todas as partes da planta podem ser comestíveis, porém, as folhas frescas e sementes secas são utilizadas com maior frequência pelos consumidores (SAHIB et al. 2013; MANDAL; MANDAL, 2015). A cultivar *C. sativum* é bastante utilizada na culinária e na medicina popular de muitas civilizações para tratamentos de várias patologias, tais como na China, Índia, Paquistão, Estados Unidos, América Central e América do Sul (BEGNAMI,

2018).

Inúmeras são as propriedades medicinais, sendo indicado para atonia gastrointestinal, ansiedade, como estimulante das atividades gástrica e hepática, anti-inflamatório, antifúngico e ansiolítico, para alívio de dores reumáticas e articulares, além de ser rico em vitaminas (A, B1, B2 e C), e fonte de cálcio e ferro (DUARTE et al. 2007). Para garantir uma boa absorção dos nutrientes, é indicado o consumo na forma de chá ou tintura (LORENZI; MATOS, 2008). Além disso, a extração do óleo essencial das plantas apresenta grande importância nutricional devido as suas características químicas e físicas. Destacam-se também na indústria de cosméticos e perfumaria, movimentando a economia nacional e internacional (DUARTE et al. 2007).

O coentro apresenta grande importância social e comercial, com um volume considerável na importação e produção nacional de sementes. As folhas e sementes são utilizadas na composição e decoração de diversos pratos regionais. As sementes podem ser utilizadas na indústria alimentícia, como condimento para carne defumada e na fabricação de pães (PEREIRA; NASCIMENTO, 2005).

O México tem-se destacado como o maior produtor e exportador de coentro do mundo, com uma produção anual de cerca de 5.000 hectares cultivados para consumo interno e exportando principalmente para os EUA, Canadá e alguns países europeus (REIS et al. 2016), no mercado de importação destaca-se o Oriente Médio e Sudoeste da Ásia (RAVI, 2006). Além disso, a cultura também é extensivamente cultivada na Rússia, Europa Central, Ásia e Marrocos (FARAHANI et al. 2008).

No Brasil, o coentro possui um alto valor de mercado, principalmente, para região Nordeste, sendo considerado uma das hortaliças mais consumidas, ficando atrás apenas da alface a nível de consumo, importação e produção (BERTINI, 2010; JOLY, 2002).

### 3 | ASPECTOS FITOSSANITÁRIOS DO COENTRO

O cultivo das hortaliças ainda é considerado uma atividade agrícola de grande risco, por ser um grupo de plantas que apresentam maior sensibilidade às condições climáticas, e devido a isso, vem sendo prejudicado com o aparecimento de doenças ocasionadas por microrganismos fitopatogênicos (FILGUEIRA, 2003). Dentre estes, destacam-se as bactérias; *Pseudomonas syringae* pv. *coriandricola* causando mancha foliar (GUPTA et al. 2012) e *Xanthomonas campestris* pv. *coriandri* ocasionando mela das folhas e caule (LEE, 2004), os vírus; *Apium-virus* Y (AVY) – família *Potyviridae* (*Potivirus*), com sintoma de mosaico e nanismo (TIAN, 2008) e Groundnut ring spot virus (GRSV) – família *Bunyaviridae* (*Tospovirus*), provocando manchas de anel clorótico, necrose e mal formação das folhas apicais (LIMA et al. 1999), os nematoides; *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* responsáveis pelo nanismo do coentro (MOURA, 2005), Oomicetos; *Pythium ultimum* e *P. irregulare* responsáveis por causar podridões nas raízes e colo (GILARDI,

2019; INFANTE et al. 2018), e os fungos, principalmente as espécies do gênero *Fusarium* que acarretam grandes prejuízos devido aos sintomas de murcha vascular e *damping-off* (LI XI et al. 2021; YANG et al. 2022), além da espécie *Sclerotinia sclerotiorum* causando o mofo branco (REIS; NASCIMENTO, 2011).

Dentre os principais problemas fitossanitários para a cultura do coentro e de hortaliças de forma geral, o *damping-off* ou tombamento de plântulas, é considerado a doença de maior importância, causando perdas expressivas na produção.

#### **4 | DAMPING-OFF**

*Damping-off* ou tombamento de plântulas pertence ao Grupo II de doenças de plantas que foi proposto por George L. McNew em 1960 (AMORIM, 2018). Nesse grupo estão presentes fitopatógenos habitantes do solo, com preferência por habitar e colonizar os tecidos vegetais jovens e sementes recém-plantadas. Os sintomas no campo, geralmente ocorre em reboleiras, e com maior frequência em solos encharcados e nas épocas mais quentes do ano. A doença é de grande importância, pois está relacionada ao fato que em decorrência da ação do patógeno na cultura ocorre a redução do stand inicial das plantas no viveiro ou no campo (REIS; LOPES, 2016).

Vários sintomas podem estar associados ao *damping-off* de plântulas, e são classificados em pré emergência, quando o ataque do patógeno ocorre antes da emergência da plântula, e pós emergência quando o ataque do patógeno ocorre após a emergência das plântulas (AMORIM, 2018).

Durante a pré emergência, os patógenos podem atacar diretamente a semente causando o escurecimento dos tecidos, perda da rigidez, murcha e apodrecimento, diminuindo o seu poder germinativo. Quando a doença evolui para os primeiros tecidos que germinam da semente, inicia-se o aparecimento de manchas encharcadas, que escurecem rapidamente, o fungo toma toda a plântula, ocorrendo então a destruição dos tecidos, acarretando morte da plântula e semente (REIS; LOPES, 2016).

Na pós emergência ocorre o tombamento das plântulas, que é o sintoma mais conhecido e visível. Os sintomas são observados na região do colo das plântulas (caulículo), rente ao solo, levando ao aparecimento de manchas encharcadas que com o decorrer do tempo vão evoluindo para lesões profundas, provocando uma constricção no caule, que por estar enfraquecido, leva ao tombamento da plântula (AMORIM, 2018).

Estudos relatam que diferentes patógenos como fungos e oomicetos são os agentes causais mais comuns de doenças deste grupo (AMORIM, 2018), com destaque para os oomicetos dos gêneros *Pythium*, *Rhizoctonia* e *Phytophthora* que apresentam um papel relevante nas culturas com sintomas do tipo *damping-off* (DINGRA et al. 2004; TYLER, 2007; INFANTE et al. 2018). Algumas espécies de fungo, como por exemplo, *Fusarium semitectum*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme* e *Fusarium*

*equiseti* já foram identificadas causando sintomas de *damping-off* no coentro (LESSY et al. 2022).

Observa-se que diferentes espécies do gênero *Fusarium* podem causar sintomas de *damping-off* no coentro, e isso, pode dificultar as medidas de controle que buscam diminuir as perdas provocadas por esse patógeno na cultura (RIBEIRO et al. 2020). Além disso, essas espécies apresentam grande capacidade saprofítica, o que dificulta o estabelecimento da cultura no campo, interferindo diretamente na densidade populacional desejável pelos produtores (INFANTE, 2016; RIBEIRO et al. 2020).

## 5 | GÊNERO *FUSARIUM*

O gênero *Fusarium* foi descrito inicialmente por Link em 1809 (LINK, 1809) e atualmente pertence à família Nectriaceae, ordem Hypocreales e classe Sordariomycetes (INDEX FUNGORUM, 2023). Os primeiros estudos sobre as espécies de *Fusarium* foi realizada por Wollenweber; Reinking (1935) e intitulada como “Die Fusarien”. Neste trabalho descreveram 65 espécies, 55 variedades e 22 *formae speciales*, sendo agrupadas em 16 seções, e a partir de então, mais de 1000 espécies já foram descritas (CABRAL, 2012).

Este gênero é considerado um dos grupos mais importantes de fungos ascomicetos (KAVAS et al. 2009). Está distribuído em todo mundo, sendo considerado um fungo cosmopolita, devido a sua alta capacidade de adaptação em diferentes ambientes (BURGESS et al. 1996). Além disso, infecta uma ampla gama de hospedeiro, colonizando tanto a parte vegetativa como a parte reprodutiva das plantas, causando vários sintomas, fato que dificulta o manejo da doença (CHANDRA et al. 2011).

Além de causar doenças em culturas de importância econômica, também existe relato desse grupo fúngico ser patogênico a humanos e animais, podendo ser transmitidos através das micotoxinas (tricotocenos, fumosinas, zearalenona, moniliformina e ácido fusárico) que são produzidas por algumas espécies de *Fusarium*, e ao infectar sementes, cereais e outros produtos vegetais no período de pré e pós colheita, quando ingeridas causam doenças severas, agudas e até mesmo crônicas em seres humanos e animais (MULÉ et al. 2004; CHANG, 2018).

Os tricotocenos (12,13-epoxytrichothecenos) são descritas como substâncias com potencial irritantes da pele e agentes inflamatórios com rápida destruição das células em divisão, afetando principalmente diferentes tipos de aves (MIROCHA; PATHRE, 1973). As fumosinas geralmente são produzidas pelas espécies *F. proliferatum*, *F. nygamai*, *F. anthophilue*, *F. verticillioides*, *F. dlamini* e *F. napiformi* sendo na maioria das vezes encontradas na cultura do milho (NELSON et al. 1983). Seis diferentes formas de fumosinas (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> e B<sub>4</sub>) já foram identificadas, a fumosina B<sub>1</sub> é a mais agressiva causando inúmeras doenças em animais como leucoencefalomalácia em eqüinos, edema pulmonar em suínos e carcinomas hepáticos e renais em ratos e camundongos (MINAMI et al. 2004).

Em seres humanos o consumo de milho contaminado com fumosinas está associado ao câncer esofágico (MINAMI et al. 2004).

A zearalenona produzidas por algumas espécies de *Fusarium* é um ácido com propriedades estrogênicas e após o seu consumo, causa problemas de saúde nos animais, principalmente, em suínos provocando a indução de estro e vulvovaginites (MINAMI et al. 2004). O ácido fusárico é uma das micotoxinas mais frequentemente encontrada na natureza, sendo produzida pela maioria das espécies de *Fusarium* (MINAMI et al. 2004). Nos animais, prejudica o consumo alimentar de aves, atuando na utilização do triptofano pelo cérebro, além de agir sinergicamente, aumentando a toxicidade de outras micotoxinas (BACON et al. 1996).

De acordo com as características morfológicas, algumas espécies podem produzir três tipos de esporos: os macroconídios, microconídios e clamidósporos. Os macroconídios são hialinos, podendo ser produzidos em conidióforos ou em esporodóquios, variando de acordo com o tipo de espécie, podendo apresentar cerca de 3 a 5 septos transversais com uma célula apical e basal nas suas extremidades, chegando a ser uma característica de grande importância na sua taxonomia. Os microconídios podem ser produzidos em fiáides sobre as hifas apresentando diferentes formatos e conter até um septo. E os clamidósporos, que são estruturas de resistência capazes de permanecer inativas no solo durante muito tempo, até que as condições de infecção sejam favoráveis para o desenvolvimento do patógeno (MILANESI, 2009).

A caracterização e identificação das espécies de *Fusarium* foi durante muito tempo resolvida apenas por caracteres fenotípicos (WOLLENWEBER; REINKING, 1935; BOOTH, 1971; NELSON et al. 1983). E a partir dos anos 90, com o uso de técnicas moleculares, baseados em sequências de DNA, ficou claro que as classificações feitas com o uso de apenas dados morfológicos subestimavam a verdadeira diversidade de espécies desse gênero (KAVAS et al. 2009).

Este gênero apresenta uma alta taxa de variabilidade genética, e devido a isto é necessário para a identificação de espécies o uso de mais de uma região genômica (AOKI et al. 2014). E segundo os estudos, relatam que as regiões ITS-rDNA, IGS, LSU e os genes EF1- $\alpha$ , RPB1, RPB2, CAM e  $\beta$ -tubulina são os marcadores moleculares utilizados para auxiliar na identificação das espécies (O'DONNELL et al. 2009; JACOBS et al. 2018). No entanto, os genes mais utilizados são EF1- $\alpha$  por ser um gene de cópia única, altamente informativo entre as espécies, apresentando baixa taxa de mutação, tendo assim, uma efetiva função de DNA barcoding para esse gênero (O'DONNELL et al. 1998; GEISER et al. 2004; HYDE et al. 2014), juntamente com o RNA polymerase II (RPB2), que é um gene bastante informativo e confiável, apresentando uma boa resolução topológica nas árvores filogenéticas geradas (O'DONNELL et al. 2008).

Com o advento das técnicas moleculares ocorreu uma nova reclassificação na taxonomia de *Fusarium*, as espécies que antes eram classificadas em 17 seções, foram



então divididas em complexos de espécies (O'DONNELL, 2000). E segundo Torres-Cruz et al. (2022), existem 23 complexos de espécies de *Fusarium* já descritos: Complexo *aywete* (FASC), *buharicum* (FBSC), *burgessii* (FburSC), *camptoceras* (FCAMSC), *clamydosporum* (FCSC), *citricola* (FCCSC), *concolor* (FCOSC ou FconSC), *falsibabinda* (FFBSC), *fujikuroi* (FFSC), *heterosporum* (FHSC), *incarnatum-equiseti* (FIESC), *lateritium* (FLSC), *newsense* (FnewSC), *nisikadoi* (FNSC), *oxysporum* (FOSC), *redolens* (FRSC), *sambucinum* (FSAMSC), *graminearum* (FGSC), *torreyae* (FtorSC), *tricinctum* (FTSC), *dimerum* (FDSC) e *solani* (FSSC).

Na cultura do coentro algumas espécies de *Fusarium* foram relatadas na literatura causando tombamento, podridão da raiz, podridão do caule e/ou murcha como *F. oxysporum*, *F. moniliforme* e *F. solani*, no Egito (NADA et al. 2014), além de *F. semitectum* e *F. equiseti* foram identificadas causando tombamento em coentro na província de El-Minia Governorate, no Egito (LESSY et al. 2022). No Brasil, houve relatos de *F. lacertarum*, *F. inflexum* e *F. falciforme* causando tombamento em plântulas de coentro (INFANTE, 2016).

No entanto, estudos mais aprofundados sobre a diversidade de *Fusarium* spp. que causam tombamento em plântulas de coentro no Brasil ainda são escassos, sendo de grande importância a identificação do agente etiológico para os estudos que buscam medidas de controle eficazes que diminuam os danos causado pela doença na cultura.

## REFERÊNCIAS

AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos. 5.ed. Piracicaba: **Agronômica Ceres Ltda**, 2018.

AOKI, T.; O'DONNELL, K.; GEISER, D. M. Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species: current status and future challenges. **Journal of General Plant Pathology**, v. 80, n. 3, p. 189-201, 2014.

BACON, C.W.; PORTER, J. K.; NORRED, W. P.; LESLIE, J. F. Production of fusaric acid by *Fusarium* species. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n.11, p. 4039-4043, 1996.

BEGNAMI, A. F. **Propriedades antinociceptiva, antiedematogênica e antiulcerogênica da fração acetato de etila das folhas de *Coriandrum sativum* L.** 2018. Tese (Doutorado em Odontologia) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Piracicaba, São Paulo.

BERTINI, C. H. D. M.; PINHEIRO, E. A. R.; NÓBREGA, G. N.; DUARTE, J. M. D. L. Desempenho agrônomo e divergência genética de genótipos de coentro. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 3, p. 409-416, 2010.

BOOTH, C. **The genus *fusarium***, 1971.

CHANDRA, Nayaka S. et al. Prospects of molecular markers in *Fusarium* species diversity. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 90, p. 1625-1639, 2011.

CHANG, X.; DAI, H.; WANG, D.; ZHOU, H.; HE, W.; FU, Y.; IBRAHIM, F.; ZHOU, Y.; GONG, G.; SHANG, J.; YANG, J.; WU, X.; YONG, T.; CHUN, C.; YANG, W. Identification of *Fusarium* species associated with soybean root rot in Sichuan Province, China. **European Journal of Plant Pathology**, v. 151, n. 3, p. 563-577, 2018.

DHINGRA, Onkar D. et al. Essential oil of mustard to control *Rhizoctonia solani* causing seedling damping off and seedling blight in nursery. **Fitopatologia brasileira**, v. 29, p. 683-686, 2004.

DIEDERICHSEN, A. Coriander, *Coriandrum sativum* L., Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops.3. Roma: International Plant Genetic Resources Institute. **Biodiversity International**, Vol. 3, 1996.

DINIZ, G. M. M. **Resistência do coentro (*Coriandrum sativum* L.) à *Meloidogyne incognita* (raças 1 e 3) e *Meloidogyne javanica***. 2012. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Melhoramento Genético de plantas) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; DELARMELENA, C.; SARTORATTO, A. Investigação da atividade do óleo essencial de duas variedades de *Coriandrum sativum* contra microrganismos envolvidos com patologias dérmicas. **Horticultura Brasileira**, v.25, p. 36, 2007.

EPPINGER, M.; HOFMANN, H. Plantas medicinais. Guia claro e simples para a sua identificação. Portugal: **Everest Editora**, 2008.

FARAHANI, A.; LEBASCHI, H.; HUSSEIN, M.; HUSSEIN, S. A.; REZA, V. A.; JAHANFAR, D. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi, different levels of phosphorus and drought stress on water use efficiency, relative water content and proline accumulation rate of Coriander (*Coriandrum sativum* L.). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 2, n. 6, p. 125-131, 2008.

FILGUEIRA, F.A.R. Novo Manual de Olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2.ed. **Viçosa: UFV**, 2003.

GEISER, D. M.; DEL MAR JIMÉNEZ-GASCO, M.; KANG, S.; MAKALOWSKA, I.; VEERARAGHAVAN, N.; WARD, T. J.; NINGZHANG, G.A.K.; O'donnell, K. A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. **European Journal of Plant Pathology**. v. 110, p. 473–479, 2004.

GILARDI, G. et al. First report of *Fusarium* wilt of coriander (*Coriandrum sativum*) caused by *Fusarium oxysporum* in Italy. **Plant Disease**, p. 1-1, 2019.

GUPTA, G.K.; SHARMA, S.K.; RAMTEKE, R. Biology, epidemiology and management of the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with special reference to charcoal rot of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Journal of Phytopathology**, v. 160, n. 4, p. 167-180, 2012.

GUSMÃO, S. A. L.; GUSMÃO, M. T. A. Produção de hortaliças com princípios orgânicos. Belém: **UFRA**, 2007.

HORTIVALE. 2011. Coentro Verdão. Disponível em: <http://www.hotivale.com.br>. Acesso em: 10 de janeiro 2023.

HYDE, K. D., NILSSON, R. H., ALIAS, S. A., ARIYAWANSA, H. A., BLAIR, J. E., CAI, L., et al. One stop shop: backbones trees for important phytopathogenic genera. **Fungal Diversity**, v. 67, n. 1, p. 21-125, 2014.

INDEX FUNGORUM. Disponível em: > <http://www.indexfungorum.org/names/names.asp> >. Acesso em: 12/01/2023.

INFANTE, N. B. **Etiologia do damping-off na cultura do coentro no município de Arapiraca-AL e efeito da interação dos patógenos na incidência da doença**. 2016. Dissertação de Mestrado (Mestrado em proteção de plantas), Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo.

INFANTE, N. B.; Feijó, F.M.; Mendes, A.L.S.F.; Ramos-Sobrinho, R.; Reis, L.S.; Assunção, I.P.; Lima, G.S.A. First report of coriander (*Coriandrum sativum*) seedling damping-off caused by *Pythium irregulare* in Brazil. **Plant Disease**, v. 102, n. 2, p. 456-456, 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA. Cidades: Produção Agrícola Municipal 2006. Disponível em: <http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/home.php> >. Acesso em: abril de 2016, 2006.

ISLA SEMENTES, 2003. Coentro Verdão Substitui o Coentro Palmeira. Disponível em: <[www.isla.com.br/artigo.cgi/coentro-verdao-substitui-o-coentro-palmeira](http://www.isla.com.br/artigo.cgi/coentro-verdao-substitui-o-coentro-palmeira)>. Acesso em: 24 jul. 2009.

JACOBS, A.; MOJELA, L.; SUMMERELL, B.; VENTER, E. Characterisation of members of the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex from undisturbed soils in South Africa. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 111, n. 11, p. 1999-2008, 2018.

JOLY, A.B. Botânica: introdução à taxonomia vegetal. São Paulo: **Editora Nacional**. 2002.

KAVAS, M.; MARASAS, W. F. O.; WINGFIELD, B. D.; WINGFIELD, M. J.; STEENKAMP, E. T. Diversity and evolution of *Fusarium* species in the *Gibberella fujikuroi* complex. **Fungal divers**, v. 34, p. 1-21, 2009.

LEE, Y. A.; LIU, Y. H. First Report of Bacterial Leaf Blight of Coriander Caused by *Xanthomonas campestris* pv. *coriandri* in Taiwan. **Plant Disease**, v. 88, p. 910, 2004.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The *Fusarium* laboratory manual**. Blackwell: Ames, 2006.

LESSY, A.M.N.; ABDEL RHIM, A.S.; ABDEL-AZIZ, N.A.; SALEH, O.I.; ABDEL-LATI, M.R. Survey on incidence of damping-off and root rot/wilt diseases of coriander (*coriandrum sativum* L.) in minia governorate. **Minia J. of Agric. Res. & Develop**, v.42, n.2, p.127-151, 2022.

LI X, KANG HJ, ZHAO Q, HI Y, CHAI A, LI B. First Report of *Fusarium oxysporum* Causing Wilt on Coriander in China. **Plant Dis**. 2021. doi: 10.1094/PDIS-05-21-1002-PDN. Epub ahead of print. PMID: 34184549.

LIMA, M.F. AVILA, A. C.; WANDERLEY JUNIOR, L. J. G.; NAGATA, T.; GAMA, L. J. W. Coriander: a New Natural host of *Groundnut ring spot virus* in Brazil. **Plant Disease**, v.83, p.878, 1999.

Link. 1809. **World Register of Marine Species**. Disponível em: <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=100226>. Acesso em: 27/06/2022.

LOPES, E. M. C. T. **Colheita, caraterização e avaliação de germoplasma de coentro (*Coriandrum sativum* L.) do Alentejo**. 2014. Dissertação (Mestrado em Agricultura Sustentável) - Instituto Politécnico de Portalegre, Escola Superior Agrária de Elvas.

- LORENZI, H.; MATOS, F. J. *Coriandrum sativum* L. In: Lorenzi, H.; Matos, F. J. Plantas medicinais no Brasil – Nativas e Exóticas. 2. ed. **Nova Odessa: Plantarum**, 2008.
- MADEIRA, N. R.; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; GIORDANO, L. B. Contribuição portuguesa à produção e ao consumo de hortaliças no Brasil: uma revisão histórica. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n.4, p. 428-432, 2008.
- MANDAL, S.; MANDAL, M. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: Chemistry and biological activity. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.5, n.6, p. 421-428, 2015.
- MARI, A. 2009. Coentro. Aphortesp - Associação dos Produtores de Horti-Fruti do Estado de São Paulo. Acesso em: 10 fev. 2023.
- MARTINS, P.P.; BESERRA J R, J.E.A.; MATOS, K.S.; MOREIRA, S.I.; REIS, A.; INFANTE, N.B.; LIMA, G.S.A.; MELO, M.P. *Rhizoctonia* spp. causing damping-off, root rot and web blight on coriander in Brazil. **Journal of Plant Pathology**, v. 104, n. 4, p. 1517-1527, 2022.
- MILANESI, P.M. **Caracterização, toxicidade e patogenicidade de Fusarium spp. em genótipos de soja em sistema plantio direto. Santa Maria (UFSM)**. 2009. Dissertação (Mestrado em Agronomia).
- MINAMI, L.; MEIRELLES, G.P.; HIROOKA, E.Y.; ONO, E.Y.S. Fumonisin: Efeitos toxicológicos, mecanismo de ação e biomarcadores para avaliação da exposição. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, v. 25, p. 207-224, 2004.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Disponível em: [https://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares\\_registradas.php](https://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php). Acesso em: 25/06/2023.
- MIROCHA, C.J.; PATHRE, S. Identification of the toxic principle in a sample of poeufusarin. **Appl Microbiol**, v.26, p.719-724, 1973.
- MOURA, R. M. Nematoides de interesse agrícola assinalados pela UFRPE no nordeste do Brasil (1967-2005). **Nematologia Brasileira**, v. 29, p. 289-292, 2005.
- MULÉ, G.; SUSCA, A.; STEA, G.; MORETTI, A. A species-specific PCR assay based on the calmodulin partial gene for identification of *Fusarium verticillioides*, *Fusarium proliferatum* and *F usarium subglutinans*. **European Journal Plant Pathology**. v 110, p. 495-502, 2004.
- NADA, M.; IMARAH, D.; HALAW, A. Efficiency of some silicon sources for controlling damping-off of coriander (*Coriandrum sativum* L.) in Egypt. **Egyptian Journal of Phytopathology**, v. 42, n. 2, p. 73-90, 2014.
- NADEEM, M.; ANJUM, F.M.; KHAN, M.I.; TEHSEEN, S.; EL-GHORAB, A.; SULTAN, J.I. Nutritional and medicinal aspects of coriander (*Coriandrum sativum* L.). **A review. Brit. Food J**, v. 115, p. 743-755, 2013.
- NELSON, P. E.; TOUSSON, T. A.; MARASAS, W. F. O. *Fusarium* Species: an Illustrated Manual for Identification. **Philadelphia: Pennsylvania State University Press**, v.193, p. 1983.
- O'DONNELL, K.; CIGELNIK, E.; NIRENBERG, H. I. Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. **Mycologia**, v. 90, n.3, p. 465-493, 1998.

O'DONNELL, K. Kistler, H. C., Tacke, B. K., Casper, H. H. Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium graminearum*, the fungus causing wheat scab. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 14, p. 7905-7910, 2000.

O'DONNELL, K.; SUTTON, D. A.; FOTHERGILL, A.; MCCARTHY, D.; RINALDI, M. G.; BRANDT, M. E.; ZHANG, N.; GEISER, D. M. Molecular phylogenetic diversity, multilocus haplotype nomenclature, and in vitro antifungal resistance within the *Fusarium solani* species complex. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n. 8, p. 2477-2490, 2008.

O'DONNELL, K.; GUEIDAN, C.; SINK, S.; JOHNSTON, P. R.; CROUS, P. W.; GLENN, A.; Riley, R.; Zitomer, N.C.; Colyer, P.; Waalwijk, C.; Der Lee, T.V; Moretti, A.; Kang, S.; Kim, H.S.; Geiser, D.M.; Juba, J.H.; Baayen, R.P.; Cromey, M.G.; Bithell, S.; Sutton, D.A.; Skovgaard, K.; Ploetz, R.; Kistler, H.C.; Elliott, M.; Davis, M.; Sarver, B.A.J. A two-locus DNA sequence database for typing plant and human pathogens within the *Fusarium oxysporum* species complex. **Fungal Genetics and Biology**, v. 46, n. 12, p. 936-948, 2009.

O'DONNELL, K.; SUTTON, D.A.; RINALDI, M. G.; SARVER, B. A.; BALAJEE, S. A.; SCHROERS, H. J.; Summerbell, R.C.; Robert, V.A.; Crous, P.W.; Zhang, N.; Aok, T.; Kyongyong, J.; Jongsun, P.; Lee, Y.H.; Kang, S.; Bongsoo, P.; Geiser, D.M. Internet accessible DNA sequence database for identifying fusaria from human and animal infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, p. 3708-3718, 2010.

OLIVEIRA, A. P. et al. Desempenho de genótipos de coentro em Areia. **Horticultura Brasileira**, v. 25, p. 252-255, 2007.

PEREIRA, R.S.; MUNIZ, M.F.B.; NASCIMENTO, W.M. Aspectos relacionados à qualidade de sementes de coentro. **Horticultura Brasileira**, v. 23, p. 703-706, 2005.

PRACHAYASITTIKUL, V.; PRACHAYASITTIKUL, S.; RUCHIRAWAT, S. Coriander (*Coriandrum sativum*): A promising functional food toward the well-being. **Food Research International**, v.105, p. 305-323, 2018.

RAVI, R.; PRAKASH, M.; BHAT, K.K. Aroma characterization of coriander (*Coriandrum sativum* L.) oil samples. **European Food Research and Technology**, v. 225, p. 367-374, 2007.

REIS, A.; NASCIMENTO, W. M. **Novas hospedeiras de *Sclerotinia sclerotiorum* na família Apiaceae na região do Cerrado do Brasil**. Horticultura Brasileira, v. 29, p. 122-124, 2011.

REIS, Ailton; LOPES, Carlos Alberto. Doenças do coentro no Brasil. 2016.

RIBEIRO, N.J.K.; MIRELLY MIGUEL PORCINO, M.M.; SILVA, H.F.; BARBOSA, E.S.; SALES, L.A.; SOUZA, M.S.; PODESTÁ, G.S. Ocorrência de tombamento em plantas de *Coriandrum sativum* L. na Paraíba. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 78256-78263, 2020.

SANTOS, K. P. **Desempenho agrônomico do coentro submetido a diferentes adubações, Altamira-Pará**. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal do Pará, campus de Altamira, Altamira, Pará.

SANTOS, P. C. **Análise fitoquímica e avaliação das antioxidante, antimutagênica e citotóxica do extrato hidroalcoólico de *Coriandrum sativum* L.** 2016. Dissertação de Mestrado (Biologia Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.

SAHIB, N. G.; ANWAR, F.; GILANI, A. H.; HAMID, A. A.; SAARI, N.; ALKHARFY, K. M. Coriander (*Coriandrum sativum* L.): A potential source of high-value components for functional foods and nutraceuticals- A review. **Phytotherapy Research**, v.27, n.10, p. 1439-56, 2013.

TIAN, T.; LIU, H. Y.; KOIKE, S.T. First Report *Apium virus* Y in Cilantro, Celery and Parsley in California. **Plant Disease**, v. 92, p. 1254, 2008.

TYLER, B.M. *Phytophthora sojae*: root rot pathogen of soybean and model oomycete. **Molecular plant pathology**, v. 8, n. 1, p. 1-8, 2007.

VAZ, A. P. A.; JORGE, M. H. A.; **COENTRO**. EMBRAPA PANTRANAL. CORUMBÁ, 2007. <http://www.cpap.embrapa.br>.

WANDERLEY JÚNIOR, L.J.G.; MELO, P.C.T. **Tapacurá: nova cultivar de coentro adaptada às condições subtropicais do Brasil**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 43. Resumo. Recife: SOB (CD-Rom), 2008.

WOLLENWEBER, H. W.; REINKING, O. A. Die fusarien: ihre beschreibung, schadwirkung und bekämpfung. **Paul Parey**, 1935.

YANG, L.; GAO, W.; ZHANG, C.; XU, L.; WANG, Y. First report of *Fusarium oxysporum* causing coriander wilt disease in North China. **Plant Disease**, v.106, n.5, p. 1525, 2022.

# PESQUISA DE FUNGOS EM PLANTAS MEDICINAIS SECAS COMERCIALIZADAS EM LOJAS DE PRODUTOS NATURAIS

*Data de submissão: 11/05/2023*

*Data de aceite: 03/07/2023*

### **Lucas Tadeu Paz Oliveira**

Centro Universitário Cesmac  
Maceió – Alagoas

### **Vanessa Leodino de Barros**

Centro Universitário Cesmac  
Maceió – Alagoas

### **Eliane Costa Souza**

Centro Universitário Cesmac  
Maceió – Alagoas

<http://lattes.cnpq.br/8850337692948178>

### **Fabiana Palmeira Melo Costa**

Centro Universitário Cesmac  
Maceió – Alagoas

<http://lattes.cnpq.br/4435744985298617>

**RESUMO:** Com o objetivo de avaliar os parâmetros de qualidade de amostras de plantas medicinais secas para utilização em chás (hibiscos, chá verde, cavalinha e espinheira santa). Duas amostras comercializadas a granel (50g/cada) de todas as espécies foram coletadas em 4 lojas de produtos naturais, totalizando 32 amostras. Foram analisadas quanto à quantificação de fungos através das Unidades formadoras de colônias (UFC/g). Todas as amostras apresentaram

contaminação para fungos em discordância com a legislação. Esse fato é preocupante, já que esses produtos são amplamente consumidos pela população. Diante disso, seria necessária uma fiscalização mais rígida por parte dos órgãos competentes envolvidos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fitoterápico. Plantas medicinais. Controle de qualidade.

### RESEARCH OF FUNGI IN DRIED MEDICINAL PLANTS MARKETED IN NATURAL PRODUCTS STORES

**ABSTRAT:** In order to evaluate the quality parameters of samples of dried medicinal plants for use in teas (hibiscus, green tea, horsetail and holy spinach). Two bulk samples (50g/each) of all species were collected in 4 natural products stores, totaling 32 samples. They were analyzed for the quantification of fungi through the colony-forming units (CFU/g). All samples showed contamination for fungi in disagreement with the legislation. This fact is worrisome, since these products are widely consumed by the population. Given this, it would be necessary a stricter supervision by the competent bodies involved.

**KEYWORDS:** Herbal. Medicinal plants.

## INTRODUÇÃO

A utilização de plantas com fins medicinais para tratamento, cura e prevenção de doenças é tão antiga quanto à origem do homem na terra e foi percebida desde os primórdios, quando observaram que as plantas continham em suas essências, princípios ativos que, quando usados no tratamento de doenças, manifestavam seu poder de cura (BADKE, et al., 2011).

As plantas medicinais são utilizadas pela maioria das pessoas que buscam um remédio alternativo para curar suas doenças e sintomas, beneficiando assim sua qualidade de vida. (TAUFNER; FERRAÇO; RIBEIRO, 2006).

De acordo com a Resolução – RDC nº10/2010 da ANVISA, droga vegetal é definida no Art. 3º como:

Planta medicinal ou suas partes, que contenham as substâncias, ou classes de substâncias, responsáveis pela ação terapêutica, após processos de coleta ou colheita, estabilização, secagem, podendo ser íntegra, rasurada ou triturada (BRASIL, 2010).

Os medicamentos botânicos vêm de plantas que são coletadas, secas e embaladas para venda, muitas vezes sem controle sanitário. Para Hellmann e Velásquez (2017), a falta de fiscalização e controle, a facilidade de disponibilidade, o risco de contaminação e as características do usuário são fatores de risco para o desenvolvimento de problemas devido ao uso de plantas medicinais de baixa qualidade como opções terapêuticas. Segundo Horwat Delaporte et al. (2002), muitos dos chás vendidos eram de má qualidade e muitas vezes continham algum tipo de falsificação.

A dificuldade da análise de controle de qualidade de fitoterápicos é agravada pelo fato de que o armazenamento prolongado em locais inapropriados muitas vezes produz contaminação microbiana, o que compromete a qualidade higiênica do produto a ser comercializado. Embora o Brasil possua leis que estabeleçam padrões e padrões de qualidade para a produção e comercialização desses produtos, eles ainda são comercializados fora dos padrões estabelecidos e não há garantia de que não haverá riscos à saúde dos consumidores (YUNES; PEDROSA; FILHO, 2001).

As plantas medicinais podem conter um grande número de fungos e bactérias. Esses fungos e bactérias podem se originar do solo, pertencer à microbiota natural da planta e até mesmo se misturar durante operações inadequadas como colheita, secagem, enchimento e armazenamento. Vários micro-organismos podem crescer aqui, aumentando muito a contaminação microbiana (PINTO; KANEKO; OHARA, 2000).

Portanto, a eficácia e a segurança das variedades vegetais dependem da qualidade e são influenciadas por diversos fatores extrínsecos e intrínsecos, indicando condições



ideais para cultivo, colheita, secagem, fabricação, preservação e armazenamento (AMARAL et al., 2003). Com isso, informações relacionadas à qualidade dessas plantas são muito importantes, pois podem conter elevado número de micro-organismos, representando um risco potencial à saúde humana. (SATOMI, 2003). Por isso, à medida que aumenta o consumo dessas plantas, aumenta também a responsabilidade dos reguladores e fabricantes, cuja qualidade e eficácia devem ser garantidas. (SATOMI; SORIANI; PINTO, 2005).

Desta forma, o objetivo desse estudo foi analisar contaminação microbiológica de plantas medicinais comercializadas a granel em lojas de produtos naturais localizadas em Maceió – AL.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma pesquisa experimental em espécies vegetais secas comercializadas a granel na cidade de Maceió – AL. As espécies escolhidas para análise foram *Hibiscus sabdariffa* (Hibisco), *Camellia sinensis* L. (Chá verde), *Equisetum arvense* L. (Cavalinha) e *Maytenus ilicifolia* Martius. (Espinheira Santa).

As amostras foram compradas em quatro estabelecimentos de produtos naturais que foram identificadas com as letras do alfabeto (A, B, C e D), pesadas (50g) e embaladas pelo próprio estabelecimento. Foram adquiridas duas amostras de cada espécie de planta vegetal em cada estabelecimento totalizando 32 amostras. Foram transportadas em temperatura ambiente para o laboratório do Centro Universitário Cesmac para as análises microbiológicas. Todas as análises microbiológicas foram realizadas segundo Silva et al (2017).

### Preparo das amostras

Foram pesadas 25g de cada amostra e posteriormente transferidas para Erlenmeyers contendo 225 mL de solução salina estéril a 0,85%, obtendo-se a diluição de  $10^{-1}$  e destas foram retiradas alíquotas de 1 mL e realizadas diluições seriadas até  $10^{-5}$ .

### Quantificação de Fungos

Foram utilizadas as diluições seriadas de  $10^{-3}$  a  $10^{-5}$ , onde foi transferida uma alíquota de 0,1mL das diluições para placas estéreis com Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC). As placas foram invertidas e colocadas à temperatura ambiente de 25°C/5 dias (Figura 1.). Foram selecionadas as placas contendo de 15 a 150 colônias e realizada a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/g. As análises foram realizadas em duplicata.



Figura 1. Crescimento fúngico no Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC).

Fonte: dados da pesquisa (2020).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas medicinais, geralmente apresentam elevada carga microbiana, sejam saprófitas ou patogênicas. A 5ª edição da Farmacopeia Brasileira estabelece os seguintes parâmetros para as plantas medicinais que serão submetidas a processos extrativos a quente: Fungos  $10^4$  UFC/g.

Todas as amostras apresentaram contaminação por fungos (Tabela 1), variando de  $1,2 \times 10^4$  a valores incontáveis UFC/g.

Este resultado das amostras com presença de fungos pode indicar contaminação durante a colheita, na hora da pesagem e embalagem para comercialização do produto, demonstrando que procedimentos de boas práticas, para essas etapas, devem ser reavaliados.

Plantas medicinais	Lojas	Amostras	Fungos (UFC/g)
Hibisco	A	A1	$1,2 \times 10^3$
		A2	$2,3 \times 10^3$
	B	B1	$2,2 \times 10^3$
		B2	INC.
	C	C1	$1,8 \times 10^3$
		C2	$3,9 \times 10^3$
	D	D1	INC.
		D2	INC.
Chá verde	A	A1	$2,0 \times 10^3$
		A2	$3,1 \times 10^3$
	B	B1	$1,3 \times 10^4$
		B2	$2,7 \times 10^4$
	C	C1	$4,1 \times 10^3$
		C2	$6,2 \times 10^3$
	D	D1	INC.
		D2	$2,3 \times 10^4$
Cavalinha	A	A1	$5,4 \times 10^3$
		A2	$3,8 \times 10^3$
	B	B1	$1,3 \times 10^4$
		B2	$1,1 \times 10^3$
	C	C1	$2,2 \times 10^3$
		C2	$4,9 \times 10^3$
	D	D1	INC.
		D2	$3,3 \times 10^3$
Espinheira Santa	A	A1	$1,8 \times 10^3$
		A2	$1,3 \times 10^3$
	B	B1	INC.
		B2	$1,0 \times 10^3$
	C	C1	$1,1 \times 10^3$
		C2	$4,5 \times 10^3$
	D	D1	$1,2 \times 10^4$
		D2	INC.

Tabela 1. Análise microbiológica de plantas medicinais secas, utilizadas em chás, comercializadas a granel na cidade de Maceió – AL, 2020.

Fonte: Dados da Pesquisa. INC. (incontáveis). UFC/g (Unidades Formadoras de Colônias/g).

Silva (2002) encontrou um estudo com resultados semelhantes, em que realizando a análise de fungos, 100% das amostras não foram aprovadas, pois apresentaram valores acima dos limites da legislação vigente. O aparecimento de fungos pode continuar da má higiene dos equipamentos, bem como de variações nos processos e armazenamento.

Em um estudo maior de Nunes (2003) na cidade de São Paulo, níveis elevados de micotoxinas foram detectados em 50 amostras de plantas medicinais utilizadas como chá e matérias-primas de fitoterápicos. Verificou-se que 80% das amostras estavam altamente contaminadas, tornando o produto impróprio para consumo.

Micotoxinas são metabólicos secundários produzidos por fungos e causam efeitos tóxicos em animais e humanos. Elas são resistentes ao tratamento térmico que normalmente os alimentos sofrem. Para o consumidor, quando ingeridas, essas micotoxinas podem acarretar graves problemas à saúde, principalmente nos rins e no fígado (MASCARENHAS, 2018).

A quantificação de fungos que contaminam as plantas medicinais é uma metodologia

importante para assegurar a saúde dos consumidores que utilizam esses tipos de produtos, pois a presença de bolores produtores de micotoxinas pode trazer efeitos adversos à saúde da população, dependendo de como as plantas medicinais para chá são preparadas (CARVALHO et al., 2009).

Tendo em vista que as micotoxinas permanecem mesmo quando os produtos passam por cocção, as estratégias de boas práticas de manipulação devem ser mais exigentes e incorporadas para garantir a qualidade e segurança dos alimentos (CARVALHO et al., 2009).

Na Bahia, Rocha et al. (2013), avaliaram a qualidade da espinheira santa (*Maytenus illicifolia* Mart.), cuja maioria das plantas provenientes de empresas de produtos naturais não atenderam aos padrões de qualidade, apresentando alto grau de impurezas e tornando-as impróprias para consumo humano. Neste estudo, os autores concluíram que as espécies comercializadas eram de baixa qualidade e, portanto, não produziam os efeitos terapêuticos desejados.

Um estudo de Berteli e Toledo (2016) no município de Apucarana-PR avaliou a qualidade microbiológica de seis amostras de chá verde adquiridas em lojas de produtos naturais. Das seis amostras, duas não atenderam à regulamentação para fungos.

Em plantas medicinais da espécie *Equisetum* sp. (cavalinha) analisadas por produtores localizados na região central do Paraná e Prudentópolis, apresentaram resultados fúngicos de  $2,0 \times 10^6$ . No mesmo estudo, com amostras da Espinheira Santa, obtiveram  $1,0 \times 10^4$  (ZARONI et al., 2004).

É importante enfatizar que práticas sanitárias insatisfatórias durante a coleta, manipulação e produção podem causar contaminações microbianas. Portanto, a utilização de treinamentos dos manipuladores que realizam toda a parte da produção de plantas medicinais secas é de suma importância para garantir uma qualidade satisfatória destes produtos. A presença de fungos toxigênicos podem acarreta, em longo prazo, sérios problemas à saúde de quem utiliza essas plantas.

## CONCLUSÃO

Todas as lojas comercializaram plantas medicinais a seco com quantidades de fungos acima do que se recomenda a legislação vigente. A utilização de plantas medicinais com presença de fungos é preocupante, uma vez que muitos são produtores de micotoxinas que podem acarretar danos à saúde humana. Deste modo, conclui-se que as plantas medicinais comercializadas a granel em lojas de produtos naturais em Maceió – AL necessitam de melhor fiscalização por parte do setor competente, como por exemplo, a vigilância sanitária.

## REFERÊNCIAS

- AMARAL, F. M. M et al. Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luís/ Maranhão. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, p.27-30, 2003.
- BADKE, M. R et al. Plantas medicinais: O saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Esc. Anna Nery**, jan-mar, 2011.
- BERTELI, L. B.; TOLEDO, E. A. **Análise microbiológica de chá verde (*Camellia sinensis*) comercializadas no município de Apucarana-PR**. 2016. Disponível em: <[http://www.fap.com.br/anais/congressomultidisciplinar2016/nutricao/analise\\_microbiologica\\_de\\_cha\\_verde.pdf](http://www.fap.com.br/anais/congressomultidisciplinar2016/nutricao/analise_microbiologica_de_cha_verde.pdf)>. Acesso em: 12 de fevereiro de 2020.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária / Fundação Oswaldo Cruz. **Farmacopeia Brasileira**, 5ª ed., Brasília: Editora FIOCRUZ, volume 1 e 2, 2010.
- CARVALHO, S et al. Contaminação fúngica em chás de camomila, erva-doce e erva mate. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 68, n.1, 2009.
- HELLMANN, M. A.; VELASQUEZ, L. G. Contaminação microbiológica. **Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 21, n. 2, p. 123-130, maio/ago. 2017.
- HORWAT DELAPORTE, et al. Estudo farmacognóstico das folhas de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze (Amaranthaceae). **Acta Farm. Bonaerense**, v.21, n.3 p. 169-174, 2002.
- MASCARENHAS, K. **Micotoxinas: vilã dos grãos que pode afetar a saúde humana e animal**. 06 de set. de 2018. Disponível em: < <https://ufla.br/noticias/pesquisa/12207-micotoxinas-vila-dos-graos-que-pode-afetar-a-saude-humana-e-animal>. Acesso: 18 de maio de 2020.
- NUNES, F. C. G. **Avaliação microbiológica e toxigênica de chás e cápsulas usados como fitoterápicos na cidade de São Paulo**, 2003. Dissertação: Mestrado – Escola Paulista de Medicina, São Paulo.
- PINTO, T. J. A. K.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. **Controle microbiológico da qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. São Paulo. Atheneu, p. 209, 2000.
- ROCHA, N. L. F., BRITO, N. M. OLIVEIRA, V. J. S. Avaliação da qualidade de produtos contendo *maytenus ilicifolia* mart. *exreissek - celastraceae* (espinheira santa) no município de Muritiba - BA. **RevistaTextura**. Governador Mangabeira. v. 6, n. 12, p. 103-109, julho/dezembro 2013.
- SATOMI, L. C.; SORIANI, R. R.; PINTO, T. J. A. P. Descontaminação de drogas vegetais empregando irradiação gama e óxido de etileno: aspectos microbianos e químicos. **Rev. bras. Cienc. Farm.** v. 41, n.4, p.445-450, 2005.
- SATOMI, L. C. **Estudo da aplicabilidade do processo de descontaminação de drogas vegetais empregando óxido de etileno**. São Paulo, 2003. 157 p. [Tese de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo].
- SILVA, C. M. **Avaliação da Qualidade Microbiológica de Alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema simplate**. Piracicaba, 2002. 72 p. [Tese de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo].

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 5ª edição. São Paulo: Livraria Varela. 2017.

TAUFNER, C. F.; FERRAÇO, E. B.; RIBEIRO, L. F. Uso de plantas medicinais como alternativa fitoterápica nas unidades de saúde pública de Santa Teresa e Marilândia- ES. **Natureza online**, Santa Tereza. 2006.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; FILHO, V. C. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Quím. Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

ZARONI, M et al. Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no Estado do Paraná. **Rev. Bras. Farmacogn.** v. 14, n. 1, jan. - jun. 2004.

## CAPÍTULO 4

# RESEARCH, EXTRACTION AND PARTIAL CHARACTERIZATION OF ANTAGONIST SUBSTANCE BACTERIOCIN-LIKE PRODUCED BY FUSOBACTERIUM NECROPHORUM

*Data de aceite: 03/07/2023*

### **Jaqueline Silvana Moreira**

Laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG  
<http://lattes.cnpq.br/6047605045111426>

### **Carolina Araújo Vieira**

Laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG  
<http://lattes.cnpq.br/8493224550886187>

### **Maria Auxiliadora Roque de Carvalho**

Laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG  
<http://lattes.cnpq.br/2274570917073543>

### **Carolina Nicolai Valeff**

Laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas

Gerais, Belo Horizonte, MG

<http://lattes.cnpq.br/3204365503180273>

### **Paula Prazeres Magalhães**

Laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG  
<http://lattes.cnpq.br/2184773662680617>

### **Luiz de Macêdo Farias**

Laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG  
<http://lattes.cnpq.br/3041207015099007>

**ABSTRACT:** *Fusobacterium necrophorum* is a Gram-negative anaerobic bacillus, of microbiota, including human beings and is associated to diseases, such as the Lemierre Syndrome. Considering the clinical relevance of this microorganism production, *in vitro*, of antagonistic substances for *F. necrophorum* ATCC 25286 was evaluated against 14 reference strains that integrate

oral human microbiota. The species that had shown greater sensitivity to the antagonistic substance had been *Peptostreptococcus anaerobius*, *Porphyromonas gingivalis*, *F. nucleatum*, *Streptococcus mutans* and *Prevotella intermedia*,, being the phenomenon better evidenced on the *Brain Heart Infusion Agar* supplemented with yeast extract and glucose at pHs 6,0 and 7,0. The antagonistic ability was not related to the production of acid, bacteriophages, peroxide of hydrogen or to residual chloroform. The protein fractions precipitates by ammonium sulphate that had shown activity had been the extra and intracellular precipitates at 50 and 80%. It was observed that C50 and C80 had kept its activity in the pH values between 7,0 and 9,0 and 5,0 the 9,0 respectively. At the thermal treatment, C50 revealed unstable than C80. After the protease treatment, active extracts had lost activity, confirming the protein nature of the substance. The molecular mass of the substance was approximately between 37 and 50 kDa evaluated as activity “in situ” against *P. anaerobius*. This is the first report of antagonistic activity of *F. necrophorum* and the relationship of heteroantagonism evidence a possible ecological role of the substance in the oral ecosystem, being able to favor bacteria with pathogenic potential, such as *F. necrophorum*, reason for which if it considers this phenomenon related to the virulence.

**KEYWORDS:** Anaerobes, *Fusobacterium necrophorum*, antagonistic substance, bacteriocin-like.

## PESQUISA, EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DE SUBSTÂNCIA ANTAGONISTA TIPO BACTERIOCINA PRODUZIDA POR *FUSOBACTERIUM NECROPHORUM*

**RESUMO:** *Fusobacterium necrophorum* é um bacilo anaeróbio Gram-negativo, da microbiota anfibiótica animal, incluindo o ser humano, e está associado a enfermidades, em sítios diversos, como a *Síndrome de Lemierre*. Considerando a relevância clínica deste microrganismo, avaliou-se a produção, *in vitro*, de substância antagonista por *F. necrophorum* ATCC 25286 contra 14 amostras de referência que integram a microbiota oral humana. As espécies que exibiram maior sensibilidade à substância antagonista foram *Peptostreptococcus anaerobius*, *Porphyromonas gingivalis*, *F. nucleatum*, *Streptococcus mutans* e *Prevotella intermedia*, sendo o fenômeno melhor evidenciado em *Brain Heart Infusion Ágar* suplementado com extrato de levedura e glicose em pHs 6,0 e 7,0. Mostrou-se que a habilidade antagonista não estava relacionada à produção de ácidos, bacteriófagos, peróxido de hidrogênio ou ao clorofórmio residual. As frações proteicas precipitadas pelo sulfato de amônio que mostraram atividade foram as extra e intracelulares, precipitadas a 50 e 80%. Observou-se que C50 e C80 mantiveram sua atividade nos valores de pH 7,0 a 9,0 e 5,0 a 9,0, respectivamente. Em relação ao tratamento térmico, C50 mostrou-se mais instável que C80. Após o tratamento com proteases, os extratos ativos perderam atividade, confirmando a natureza protéica da substância. A massa molecular da substância foi estimado entre 37 e 50 kDa, conforme atividade “in situ” contra *P. anaerobius*. Esse é o primeiro relato de atividade antagonista de *F. necrophorum* e a relação de heteroantagonismo observada evidencia um possível papel ecológico da substância no ecossistema oral, podendo favorecer bactérias indígenas com potencial patogênico, como o *F. necrophorum*, motivo pelo qual se considera este fenômeno relacionado à virulência.

**PALAVRAS-CHAVE:** Anaeróbios, *Fusobacterium necrophorum*, substância antagonista,



substância tipo bacteriocina.

## INTRODUCTION

*Fusobacterium necrophorum* is a Gram-negative obligate anaerobic pleomorphic rod considered to be an important opportunistic pathogen in both human and veterinary medicine [3; 18; 24]. On the basis of morphological, biochemical, biological properties and differences in DNA level in 16S rRNA and DNA repeats two subspecies of *F. necrophorum* can be differentiated, *F. necrophorum* subsp. *necrophorum* considered to be mainly an animal pathogen, and *F. necrophorum* subsp. *funduliforme* more frequently associated with infections in humans [3; 6; 18; 26; 29].

Although overall *F. necrophorum* seems to be responsible for a low number of human infections its relevance should not be neglected. The bacterium shows a clearly established association with the ethiopathogenesis of a systemic disease known as necrobacillosis, postanginal sepsis, or Lemierre's syndrome a life-threatening septicaemic illness. The bacterium has also been implicated as an agent of community-acquired sore throat being responsible for as much as 10% of pharyngitis cases among adolescents and young adults [1; 6; 18; 24]. In addition to a possible association of the pathogen with cases of colorectal cancers [29].

Several virulence abilities that help the microorganism to evade from host defense mechanisms and contribute for tissue damage including lipopolysaccharide, hemolysin, hemagglutinin, capsule, adhesins, platelet aggregation factor, dermonecrotic toxin, several extracellular enzymes, and mainly leukotoxin have already been described [16; 19]. However we are not aware of any report on the production of antagonistic substances such as bacteriocin by *F. necrophorum*.

Bacteriocins are defined as bactericidal or bacteriostatic proteinaceous substances that play an ecological role in regulating bacterial populations either by preventing or enabling the establishment of a microorganism in an already existing microbial community. Whatever roles bacteriocins play their expression seems to be influenced by biotic and abiotic environmental factors. Bacteriocins synthesized by Gram negative bacteria are called microcins and colicins with molecular weights of up to 10 kDa and 25 to 80 kDa, respectively [7; 23].

Taking into account the relevance of *F. necrophorum* as a cause of animal and human life-threatening diseases, the importance of bacterial antagonistic substances as putative virulence factors, and the lack of studies evaluating the production of this kind of substances by the bacterium we carried out this investigation aiming to search for bacteriocin-like antagonist substances production by *F. necrophorum* and to partially characterize the substance.

## MATERIALS AND METHODS

### 1 | BACTERIAL STRAINS

The reference strain *F. necrophorum* ATCC 25286 was tested as producer of antagonistic substance(s). Additionally to the test strain the following strains were also used as indicators: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* FDC Y4, *Actinomyces israelii* ATCC 12102, *Eubacterium lentum* ATCC 25559, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953, *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC 27337, *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, *Prevotella intermedia* ATCC 25611, *Cutibacterium (Propionibacterium) acnes* ATCC 6916, *Staphylococcus aureus* ATCC 33951, *Streptococcus mutans* IM/UFRJ, *Streptococcus sanguinis (S. sanguis)* ATCC 10557, *Streptococcus sobrinus* ATCC 27351, and *Streptococcus uberis* ATCC 9927. Stock cultures were maintained in Brucella Broth (BBL, Sparks, MD, USA) supplemented with 10% (v/v) glycerol at -86°C. All samples are part of the library of the Laboratory of Oral and Anaerobic Microbiology.

### 2 | EVALUATION OF ANTAGONISTIC ACTIVITY

Antagonistic activity expression was evaluated by the overlay method [4; 8]. The test strain was cultivated in Brain Heart Infusion (Difco, Sparks, MD, USA) supplemented with 0.5% hemin, 0.1% menadione, 0.5% yeast extract, and 0.05% L-cysteine, pH 7.2 (BHI) at 37°C for 48 h in an anaerobic chamber (Forma Scientific Inc., Marietta, OH, USA) containing 85% N<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, and 10% H<sub>2</sub>. The culture was spotted onto the surface of the following media (Difco): Brain Heart Infusion Agar (BHIA), Brucella Agar (BA), and Tryptic Soy Agar (TSA) all of them supplemented with 0.5% hemin, 0.1% menadione, and 0.075% L-cystine added or not with 0.5% yeast extract (YE), 0.5% glucose (GLU), or both and adjusted at pH 6.0, 7.0, 8.0, and 9.0. After incubation at 37°C for 48 h under anaerobic conditions, the strain was killed by exposure to chloroform vapour for 30 min. Residual chloroform was allowed to evaporate and the test cultures were overlaid with 3.5 ml of melted Brain Heart Infusion Soft Agar (0.7%) supplemented with 0.5% hemin, 0.1% menadione, and 0.5% yeast extract, pH 7.0 (BHISA), which had been inoculated with 0.2 ml of a 24 h BHI culture of each indicator strain. Plates were then incubated for an additional 24-48 h period at 37°C under appropriate atmospheric conditions according to the physiology of the indicator strain and evaluated for the presence of inhibition zones. Considering all possible culture media, supplementations, and pH values combinations forty-eight distinct conditions were employed for the evaluation of antagonistic activity expression.

### 3 | DETECTION OF INTERFERING FACTORS

All assays performed to evaluate possible interfering factors employed the following

culture conditions. Producer and indicator strains were cultivated in BHI for 24 h at 37°C under anaerobic atmosphere. Agar cultures were done in BHIA, pH 7.0 and incubated for 24 h at 37°C in anaerobiosis unless otherwise specified. *P. anaerobius* ATCC 27337 and *F. nucleatum* ATCC 10953 were employed as indicator strains.

The flip-streak method was used to eliminate bacteriophage activity as the cause for antagonism [11]. Briefly, an overnight liquid culture of *F. necrophorum* ATCC 25286 was streaked along the middle of a 2 to 3 mm-thick agar plate. The plates were incubated for 48 h after which the agar was flipped over using a forceps and an overnight culture of *P. anaerobius* or *F. nucleatum* was swabbed over the reverse side of the agar. Following incubation evidence of inhibition of the indicator strain was recorded.

The occurrence of inhibition caused by long-chain fatty acids synthesized by the test strain was evaluated by using agar plates added or not with 1% (w/v) soluble starch. To search for interference of acidity resulting from bacterial metabolism the pH of the surface of the culture medium inside and outside the inhibition zones was measured with the aid of a microelectrode (Microelectrode Inc., Foster City, CA, USA) [30].

Agar medium added or not with 0.03% (w/v) catalase (Sigma Company; St. Louis, MO, USA) was employed to evaluate the interference of hydrogen peroxide [10]. The occurrence of inhibition due to residual chloroform was investigated by performing antagonistic activity assays without using the substance. After growth of the test strain, the indicators were inoculated with a loop near the spots of the producer strain without touching them [17].

#### **4 | PROTEIN EXTRACTION FROM INTRACELLULAR AND EXTRACELLULAR FRACTIONS OF *F. NECROPHORUM* ATCC 25286**

*F. necrophorum* ATCC 25286 was grown in 800 ml of BHI at 37°C under anaerobic conditions until early stationary phase (24 h). The culture was centrifuged at 6,000 x g for 30 min and cell-free supernatant was precipitated with ammonium sulfate at 30, 50, and 80% saturation levels under constant slow stirring at 4°C for 30 min in order to obtain extracellular fractions S-30, S-50, and S-80, respectively. The protein precipitate was collected by centrifugation at 12,000 x g for 30 min, and resuspended (1/10 of the original volume) in 10 mM Tris-HCl, pH 7.2. The crude extract was then dialysed twice (Spectra/Por® 1; Spectrum Laboratories Inc., Rancho Dominguez, CA, USA) against the same buffer during 24 h at 4°C under agitation on a magnetic stirrer.

The cells pelleted by centrifugation as described above were washed three times with same buffer, suspended in 20 ml and sonicated (Branson Sonifier 450; Danbury, CT, USA) for 5 min (10 cycles of 30 sec) at 50 W in an ice bath. Cellular disruption was checked by microscopy. The extract was centrifuged at 12,000 x g for 60 min at 4°C and the proteins from the supernatant were precipitated with ammonium sulfate, centrifuged, suspended in Tris-HCl, and dialyzed as described above. Intracellular fractions obtained were named C-30, C-50, and C-80. Extracellular and intracellular crude extracts were filter-

sterilized (Millex-GP, 0.22  $\mu\text{m}$ , PES; Millipore, Carrigtwohill Co., Cork, Ireland) and tested for antagonistic activity [27].

## 5 | ANTAGONISTIC ACTIVITY ASSAYS

Aliquots of 0.2 ml of a 24 h BHI culture of *P. anaerobius* ATCC 27337 and *F. nucleatum* ATCC 10953 were transferred to 3.5 ml of BHISA and the inoculums were poured over BHIA plates. Aliquots of 20  $\mu\text{l}$  from each intracellular and extracellular fraction were dropped over the surface of the medium. Evidence of activity was provided by the presence of zones of growth inhibition of the indicator strain after 24 h of incubation at 37°C under anaerobic atmosphere. Active fractions were aliquoted and maintained at -80°C [14].

## 6 | DETERMINATION OF PROTEIN CONCENTRATION AND SEMI-QUANTITATIVE BIOASSAY OF THE INHIBITORY ACTIVITY OF INTRACELLULAR EXTRACTS C-50 AND C-80

Protein concentration of active crude extracts was estimated according to [5].

Titration of antagonistic activity was performed. Briefly, C-50 and C-80 active extracts were titrated through serial dilutions in 0.01 M Tris-HCl, pH 7.2 sterile and tested for antagonistic activity. The presence or absence of inhibition zones was recorded. Titer expressed as arbitrary units of bacteriocin per milliliter (AU/ml) was defined as the reciprocal of the highest dilution that resulted in inhibition of the indicator lawn [14; 31].

## 7 | EFFECT OF PHYSICOCHEMICAL FACTORS ON ANTAGONISTIC ACTIVITY

The effect of proteolytic enzymes on antagonistic activity was determined by using  $\alpha$ -chymotrypsin, papain, proteinase K, and trypsin (Sigma) diluted (1.0 mg ml<sup>-1</sup>) in 0.1 M Tris-HCl/0.15 M NaCl, pH 7.4. Enzyme solutions were filter-sterilized (Millex-GP, 0.22  $\mu\text{m}$ , PES), aliquots of C-50 and C-80 were two-fold diluted in each enzyme solution, and mixtures were incubated at 37°C for 2 h. Remaining antagonistic activity after enzyme treatment was determined as described previously. Diluted C-50 and C-80 (0.01 M Tris-HCl, pH 7.2) and enzyme solutions were used as controls [28].

Thermostability was evaluated by incubating two-fold diluted aliquots of C-50 and C-80 in 0.01 M Tris-HCl, pH 7.2 at 37, 45, 65, 80, 100 and 121°C for 15, 30, 60, and 90 min, 2, 3, 4, 5, 6, and 7 h. After treatment, temperature was set at 4°C and each aliquot was tested for antagonistic activity. Untreated diluted aliquots of C-50 and C-80 were used as controls [28].

The effect of pH was examined by employing the following buffers: citrate 0.01 M, pH 3.0, 4.0, 5.0, and 6.0 and 0.01 M Tris-HCl, pH 7.0, 8.0, and 9.0. C-50 and C-80 were two-fold diluted in each filter-sterilized (Millex-GP, 0.22  $\mu\text{m}$ , PES) buffer and incubated at 37°C for 2

h. Antagonistic activity expression was evaluated. C-50 and C-80 aliquots two-fold diluted in 0.01 M Tris-HCl, pH 7.2 and buffers without extracts were employed as controls [28].

## 8 | TRICINE-SDS-PAGE AND *IN SITU* ASSAY

Fractions C-50 and C-80 were submitted, in duplicate, to Electrophoresis in Gel of Polyacrylamide Sodium Tricine Duodecyl Sulfate (TRICINE-SDS-PAGE, 16.5%) [25]. The gel was cut into two vertical halves and one of them was thoroughly washed (six periods of 30 min each) with sterile Milli-Q® water (Millipore, Molsheim, France) under agitation. After that the gel was employed for detection of antagonistic activity by overlaying it with 30 ml of BHISA inoculated with 0.85 ml of a 24 h BHI *P. anaerobius* culture. After incubation at 37°C overnight in anaerobic atmosphere the presence of growth inhibition zones around protein bands was evaluated. The other half of the gel was stained with silver nitrate (CENNABRAS, Guarulhos, SP, Brazil) and the molecular mass of the active antagonistic substance was estimated by employing a 10 to 250 kDa standard (Precision Plus Protein™ Dual Color Standard; Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA).

## 9 | EVALUATION OF POPULATION HETEROGENEITY

The producing sample, grown in broth, for 24 h, in anaerobiosis, at 37°C, was submitted to serial dilution ( $10^{-1}$  to  $10^{-8}$ ). Each dilution was plated and incubated under the same conditions for 48 h. After growth, the Colony Forming Units (CFUs) were counted on the plates that showed bacterial counts in the range of 30 to 300 colonies. These plates were submitted to the antagonist activity test. The reading was carried out by counting the number of bacteriocin-producing CFUs, considering the presence of an inhibition halo in the revealing sample, followed by the estimate, by percentage of producing individuals [28].

## 10 | STATISTICAL ANALYSIS

Data were analyzed for statistical differences by employing  $\chi^2$  test with Yates correction or Fisher's exact test when applicable (Epi Info™ version 3.5.1; CDC, Atlanta, GA, USA). The level of significance was set at  $p < 0.05$ .

## RESULTS

### 11 | EVALUATION OF ANTAGONISTIC ACTIVITY

A total of 241 (35.9%) out of the 672 performed assays for evaluating the expression of antagonism by *F. necrophorum* ATCC 25286 yielded positive results (TAB. 1). The test strain exhibited heteroantagonistic activity against a wide pannel of indicator strains.

Autoantagonism was not detected.

In regard to heteroantagonism when the analysis considered each indicator strain individually *P. anaerobius* showed to be the most sensitive indicator ( $p < 10^{-7}$ , OR = 11.01, 95% CI = 4.76-29.56 when compared to the sum of the results obtained for all other indicator strains). Antagonistic activity was detected in 41 (85.4%) out of 48 assays that employed this strain. High numbers of positive tests were found for *P. anaerobius*, *P. gingivalis*, *F. nucleatum*, *S. mutans* and *P. intermedia* (TAB.1). *S. sobrinus* was not inhibited in any tested condition.

Data regarding the influence of medium composition on antagonistic activity expression are depicted in TAB. 1. BHIA showed to be the most adequate medium for heteroantagonism expression (50.0% positive tests) when the analysis considered the three non-supplemented culture media. Statistical difference was not detected between BA and TSA ( $p = 3.3 \times 10^{-1}$ ). Supplemented culture media showed to be more adequate for heteroantagonism detection ( $p = 8.2 \times 10^{-5}$ , OR = 2.28, 95% CI = 1.50-3.51). With greater emphasis on the supplemented BHIA medium compared to the supplemented BA and TSA.

The overall results concerning the effects of supplementation for all culture media demonstrated that the addition of yeast extract had no effect on the frequency of antagonistic activity detection ( $p = 6.4 \times 10^{-2}$ ). Glucose favoured the expression of antagonism ( $p = 2.4 \times 10^{-4}$ , OR = 2.51, 95% CI = 1.51-4.18) and the use of both supplements together also enhanced the number of positive assays ( $p = 2.4 \times 10^{-5}$ , OR = 2.85, 95% CI = 1.72-4.75) (TAB. 1).

The effect of culture pH on production of antimicrobial substances was investigated (TAB. 2). The optimal pH were 6.0 and 7.0 followed by pH 8.0 and 9.0. In general higher pH values lead to lower inhibition frequencies for all indicator strains considering the sum of results obtained for all culture media.

Culture media <sup>1</sup>	Number of positive antagonistic activity assays <sup>2</sup>												Total
	Fn	Aa	Ai	El	Pan	Pg	Pi	Ca	Sa	Sm	Ss	Su	
BHIA	3	2	1	2	4	3	4	2	1	3	0	1	26
BHIA + YE	3	3	2	2	3	4	2	2	1	2	1	1	26
BHIA + GLU	4	2	2	2	4	4	4	3	3	4	0	0	32
BHIA + YE + GLU	4	1	3	3	4	4	3	3	3	3	0	0	31
Sub-total	14	8	8	9	15	15	13	10	8	12	1	2	115
BA	0	0	0	0	4	3	0	0	0	2	0	0	9
BA + YE	3	0	1	1	4	3	2	0	0	2	2	0	18
BA + GLU	4	0	3	2	4	3	3	3	2	3	0	0	27
BA + YE + GLU	4	3	2	2	4	1	2	2	2	3	0	0	25
Sub-total	11	3	6	5	16	10	7	5	4	10	2	0	79
TSA	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	4
TSA + YE	1	1	1	0	1	2	2	1	1	1	0	0	11
TSA + GLU	1	0	0	0	4	2	1	2	0	2	0	0	12
TSA + YE + GLU	1	2	0	1	4	3	3	1	2	3	0	0	20
Sub-total	4	3	1	1	10	8	6	4	3	7	0	0	47
Total	29	14	15	15	41	33	26	19	15	29	3	2	241

<sup>1</sup>, all media added with 0.5% hemin, 0.1% menadione, and 0.075% L-cystine and tested at pH 6.0, 7.0, 8.0, and 9.0; <sup>2</sup>, *F. necrophorum* and *Streptococcus sobrinus* were not inhibit in any tested condition; BHIA, Brain Heart Infusion Agar; BA, Brucella Agar; TSA, Tryptic Soy Agar; YE, 0.5% yeast extract; GLU, 0.5% glucose; Fn, *Fusobacterium nucleatum*; Aa, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; Ai, *Actinomyces israelii*; El, *Eubacterium lentum*; Pa, *Peptostreptococcus anaerobius*; Pg, *Porphyromonas gingivalis*; Pi, *Prevotella intermedia*; Ca, *Cutibacterium (Propionibacterium) acnes*; Sa, *Staphylococcus aureus*; Sm, *Streptococcus mutans*; Ss, *Streptococcus sanguinis (S. sanguis)*; Su, *Streptococcus uberis*.

Table 1. Influence of culture media on antagonistic activity of *Fusobacterium necrophorum* ATCC 25286

Culture media pH <sup>1</sup>	Number of positive antagonistic activity assays <sup>2</sup>												Total
	Fn	Aa	Ai	El	Pan	Pg	Pi	Ca	Sa	Sm	Ss	Su	
6.0	10	6	6	7	12	10	9	9	8	11	2	1	91
7.0	7	3	6	5	10	8	9	7	4	9	1	0	69
8.0	7	2	2	2	10	9	6	3	3	7	0	0	51
9.0	5	3	1	1	9	6	2	0	0	2	0	1	30
Total	29	14	15	15	41	33	26	19	15	29	3	2	241

<sup>1</sup>, Brain Heart Infusion Agar, Brucella Agar, and Tryptic Soy Agar added with 0.5% hemin, 0.1% menadione, and 0.075% L-cystine and supplemented or not with 0.5% yeast extract, 0.5% glucose, and both supplements; <sup>2</sup>, *F. necrophorum* and *Streptococcus sobrinus* were not inhibit in any tested condition; Fn, *Fusobacterium nucleatum*; Aa, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; Ai, *Actinomyces israelii*; El, *Eubacterium lentum*; Pa, *Peptostreptococcus anaerobius*; Pg, *Porphyromonas gingivalis*; Pi, *Prevotella intermedia*; Ca, *Cutibacterium (Propionibacterium) acnes*; Sa, *Staphylococcus aureus*; Sm, *Streptococcus mutans*; Ss, *Streptococcus sanguinis (S. sanguis)*; Su, *Streptococcus uberis*.

Table 2. Influence of culture media pH on antagonistic activity of *Fusobacterium necrophorum* ATCC 25286.

## 11.1 Detection of interfering factors

Data obtained ruled out the possibility that inhibition was due to bacteriophages, low pH values resulting from the production of organic acids, long-chain fatty acids, hydrogen peroxide, and residual chloroform.

## 12 | PROTEIN EXTRACTION AND ASSAY OF ANTAGONIST ACTIVITY OF FRACTIONS OF *F. NECROPHORUM* ATCC 25286

Extracellular fractions S-50, S-80 and intracellular C-50, C-80; originated from *F. necrophorum* ATCC 25286 and obtained by protein precipitation with ammonium sulfate; were active against *P. anaerobius* and *F. nucleatum*. Since the C-50 and C-80 fractions showed the best results.

## 13 | DETERMINATION OF PROTEIN CONCENTRATION AND SEMI-QUANTITATIVE BIOASSAY OF THE INHIBITORY ACTIVITY OF INTRACELLULAR EXTRACTS C-50 AND C-80

The protein concentration of the C-50 and C-80 extracts were, respectively, 5.53 mg/ml and 6.90 mg/ml. The C-50 extract showed antagonist titers of 12800 (AU/ml) for *F. nucleatum* and 800 (AU/ml) for *P. anaerobius*. The C-80 extract, on the other hand, showed an antagonistic title of 800 (AU/ml) for *F. nucleatum* and 12800 (AU/ml) for *P. anaerobius* (TAB. 3).

## 14 | EFFECT OF PHYSICOCHEMICAL FACTORS ON ANTAGONISTIC ACTIVITY

Differences between these two active extracts regarding proteases, temperature and stability to pH were observed in Table 3.

## 15 | TRICINE-SDS-PAGE AND *IN SITU* ASSAY

The stained gel showed good sensitivity to the color of silver, but it was not possible to detect which of the bands refer to substances of the bacteriocins-like contained in the C-50 (2) and C-80 (3) extracts, due to the numerous protein bands visualized (FIG. 1A).

The *in situ* activity assay of C-80 (3) against *P. anaerobius* showed a clear inhibition zone in the region corresponding to bands ranging from 37 to 50 kDa (FIG. 1B).



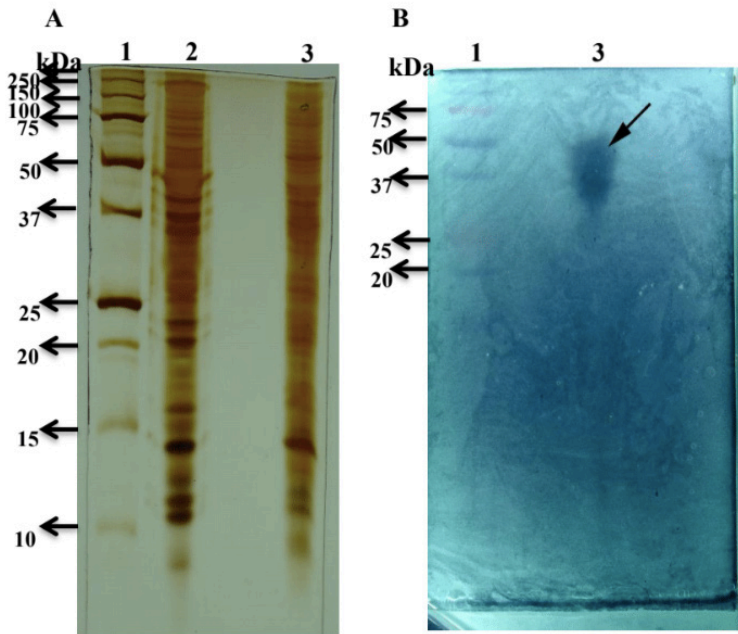


Figure 1. Tricine-SDS-PAGE and *in situ* assay of C-50 and C-80, intracellular extracts from *Fusobacterium necrophorum* ATCC 25286. A, Tricine-SDS-PAGE stained with silver nitrate; B, *In situ* antagonistic activity of C-80 extract from *F. necrophorum* ATCC 25286 against *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC 27337 as revealed by Tricina-SDS-PAGE. 1, Standard of molecular mass (Precision Plus Protein Pertained Standards, Dual Color, 10 the 225 kDa); 2, C-50 extract; 3, extract C-80.

## 16 | EVALUATION OF POPULATION HETEROGENEITY

The evaluation of population heterogeneity showed that 99% of the clones of *F. necrophorum* ATCC 25286 are producers of bacteriocin-like substance against the revealing samples *P. anaerobius* and *F. nucleatum* (Fig 2).

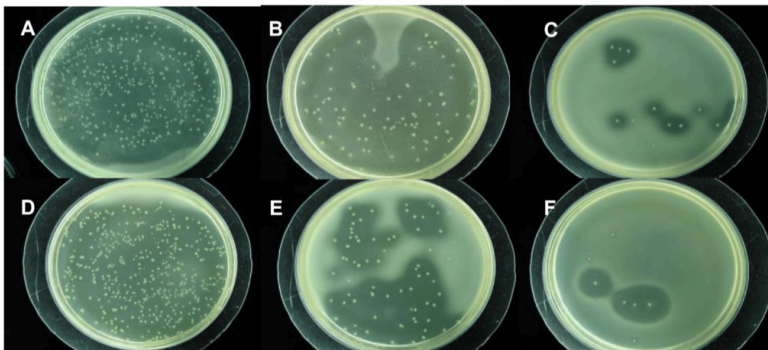


Figure 2. Percentage of subpopulations producing bacteriocin-like substances against *P. anaerobius* (dilutions: A  $10^{-3}$ ; B,  $10^{-4}$ ; C,  $10^{-5}$ ) and *F. nucleatum* (dilutions: D,  $10^{-3}$ ; E,  $10^{-4}$ ; F  $10^{-5}$ ).

Ex-tract	Titer of antagonistic activity (AU/ml)		Proteases				Thermostability (time)					Protein concentration (mg/ml)	pH stability
	Fn	Pan	a-chymotrypsin	Papain	Proteinase K	Trypsin	121°C	80°C	65°C	45°C	37°C		
C50	12800	800	++	+	+	++	15 min	30 min	30 min	30 min	5 h	5.53	7.0-9.0
C80	800	12800	+	+	+	++	15 min	30 min	30 min	2 h	7 h	6.90	5.0-9.0

C-50 and C-80, intracellular fractions precipitated with ammonium sulfate at 30, 50, and 80% saturation levels, respectively; Fn, *Fusobacterium nucleatum*; Pan, *Peptostreptococcus anaerobius*; ++, total inactivation; +, partial inactivation.

Table 3. Partial purification and characterization of antagonistic substance(s) produced by *Fusobacterium necrophorum* ATCC 25286.

## DISCUSSION

Despite the increasing knowledge regarding the role of *F. necrophorum* as an agent of human diseases several aspects concerning the relationship between the bacterium and its host still have to be learned. The expression of a number of pathogenicity factors by *F. necrophorum* have already been described but efforts should be made aiming to elucidate in a more comprehensive way the whole set of virulence abilities exhibited by the organism [1].

Among bacterial virulence properties bacteriocins should be mentioned. These antagonistic substances influence microbial relationships, because it aid in competition for nutrients and conquest of a habitat. In addition to their ecological relevance, it has received increasing attention due to their practical application [9; 15].

Considering the genus *Fusobacterium* the elaboration of proteinaceous antagonistic substances has been reported for only two species: *F. nucleatum* [17; 22] and *F. mortiferum* [20].

For evaluating the expression of antagonism by *F. necrophorum* the reference strain *F. necrophorum* ATCC 25286 was tested against a wide pannel of indicator strains. This approach would additionally allow us to determine the activity spectrum of the antagonistic substance(s) possibly expressed and to characterize it(ies) in terms of self-antagonism: when the protein substance produced operate against the producing strain; Isoantagonism: when the produced protein substance act against another isolate of the same species; heteroantagonism: when the produced protein substance work against other species phylogenetically related to the producing species [27].

*F. necrophorum* exhibited a wide spectrum of antagonistic activity. In fact taking into account data generated by each antagonistic activity assay nearly all indicator strains were inhibited by the bacterium, with emphasis on greater sensitivity for *P. anaerobius*, *P. gingivalis*, *F. nucleatum*, *S. mutans* and *P. intermedia*. The strong heteroantagonism

observed against *F. nucleatum* was already expected, since this is the microorganism most phylogenetically related to *F. necrophorum*. The absence of autoantagonism expression is in agreement with previous studies.

In general literature data demonstrate that bacteriocins produced by Gram negative bacteria exhibit activity mainly against closely related species and that bacteriocin producing strains usually express a specific immune mechanism that protects themselves against their own bacteriocin [23].

Assuming that there are evidences demonstrating that bacteriocin expression is affected by culture conditions we evaluated the influence of composition and pH of culture media on *F. necrophorum* antagonistic activity expression. Data indicating that the number of positive tests was significantly higher when BHIA was employed. Because it is a rich medium, BHIA provides an increase in the population density of bacteria. Bacteriocins are generally produced in higher concentrations when the producing bacterium is under stress conditions, such as high population density [27].

Besides higher amounts of bacteriocin expression some other possible explanations may be formulated. *F. necrophorum* may be able to produce more than one bacteriocin with diverse activity spectrum and the substances may be differentially synthesized under the influence of culture media composition. Also it is plausible to hypothesize that any component of each culture media could somehow interfere with antagonism expression both contributing or impairing bacteriocin activity or even affecting the susceptibility of some indicator strains.

In regard to the use of glucose (energy) and yeast extract (nitrogen) to supplement culture media tested overall only glucose had a positive effect on antagonism detection. The positive effect of glucose addition on antagonism expression has already been detected especially for lactic acid bacteria [13]. In relation to *F. necrophorum*, Wahren *et al.* (1971), reports the presents proteases on its cellular wall, whose activity is inversely related to glucose concentration. This could be another explanation for a positive effect of glucose addition inhibiting a proteolytic action on antagonistic substance of proteic nature such as bacteriocins.

The antagonistic action of the substance produced by *F. necrophorum* was higher in a culture medium with pHs 6.0 and 7.0, decreasing with increasing alkalization until reaching pH 9.0. The pH of the culture medium is important not only for the growth of bacteriocin-producing bacteria, but also for the synthesis and stability of this substance. Some bacteriocins are only produced under controlled pH conditions, while for others this parameter seems not to be essential [11].

The test to verify the presence of interference factors confirmed that the generated antagonistic action did not come from bacteriophages, low pH values resulting from the production of organic acids, long chain fatty acids, hydrogen peroxide and residual chloroform.

Cellular extraction of the antagonist substance(s) was obtained from the extracellular (S) and intracellular (C) media of *F. necrophorum* by adding 30-50% (50) and 50-80% (80) w/v of ammonium sulfate. The best results of the antagonist action against *F. nucleatum* and *P. anaerobius* were found in the intracellular extracts C-50 and C80, which also showed thermostability of the substances. Other authors also reported more satisfactory results in the antagonistic action of the intracellular extract compared to the extracellular extract. This represents an important step in obtaining a greater amount of the molecule for study and other characterization [2; 21; 27].

The protein natures of the substances present in the C-50 and C-80 extracts were confirmed by protein dosage and the total or partial inactivation of the antagonistic action when submitted to the test with proteolytic enzymes. This corroborates the term bacteriocins, which are protein molecules with bactericidal or bacteriostatic action [28]. The thermostability too is a feature present among bacteriocins [27]. Which corroborates the data obtained in the present study.

The *in situ* activity assay of C-80 against *P. anaerobius* showed the presence the antagonist substance with molecular weight between 37 to 50 kDa. Bacteriocins produced by Gram negative bacteria with molecular weight between 25 to 80 kDa are called colicins. The results obtained support the hypothesis that the substance under study is a colicin-type bacteriocin.

Data in the literature show the increase of the frequency of resistant bacterium samples to drugs. This has stimulated the search of substitute methods for the treatment of infections. Bacteriocin can constitute an alternative solution in the development of new medicines.

Concluding, the present study seems to be the first report of the detection and partial characterization of bacteriocin-like substances produced by *F. necrophorum*, an important microorganism in human and veterinary medicine. The complete purification and sequencing of the antagonistic substances are currently carried out in our laboratory.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The present study was supported by grants from the Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) Projeto APQ-00786-08-Edital 01/2008-Demanda Universal, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Pró-Reitoria de Pesquisa da UFMG (PRPq/UFMG). The authors are indebted to Luzia R. Rezende and José Sérgio B. Souza (AT/CNPq) for technical assistance.

## CONTRIBUTION

Jaqueline Silvana Moreira and Carolina Araújo Vieira (Both authors contributed equally to the manuscript).

## REFERENCES

1. ALIYU, S. H.; MARRIOTT, R. K.; CURRAN, M. D.; PARMAR, S.; BENTLEY, N.; BROWN, N. M. **Realtime PCR investigation in to the importance of *Fusobacterium necrophorum* as a cause of acute pharyngitis in general practice.** *J Med Microbiol*, v.53, p.1029–53. 2004.
2. APOLÔNIO, A. C. M.; CARVALHO, M. A. R.; BEMQUERER, M. P.; SANTORO, M. M.; PINTO, S. Q.; OLIVEIRA, J. S.; SANTOS, K.V.; FARIAS, L. M. **Purification and partial characterization of a bacteriocin produced by *Eikenella corrodens*.** *J. Appl. Microbiol.* v. 104, p. 508-514. 2008.
3. BISTA, P.K; PILLAI, D.; ROY, C.; SCARIA, J.; NARAYANAN S, K. **Comparative genomic analysis of *Fusobacterium necrophorum* provides insights into conserved virulence genes.** *Microbiol Spectr*, v.10, p. 1-18. 2022.
4. BOOTH, S. J.; JOHNSON, J. L.; WILKINS, T. D. **Bacteriocin production by strains of *Bacteroides* isolated from human feces and the role of these strains in the bacterial ecology of the colon.** *Antimicrob Agents Chemother*, v.11, p.718-24. 1977.
5. BRADFORD, M. M. **A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.** *Anal Biochem.*, v.72, p.248-54. 1976.
6. BRAZIER, J. S. **Human infections with *Fusobacterium necrophorum*.** *Anaerobe*, v.12, p.165-172. 2006.
7. DARBANDI, A.; ASADI, A.; MAHDIZADE ARI, M.; OHADI, E.; TALEBI, T.; ZADEH , M. H.; EMAMIE, A. D.; GHANAVATI, R.; KAKANJ, M. **Bacteriocins: Properties and potential use as antimicrobials.** *J Clin Lab Anal*, v. 36, p. 1-40. 2022.
8. FARIAS, L. M.; TOTOLA, A. H.; MIRANDA, C. M. S.; CARVALHO, M. A. R.; DAMASCENO, C. A. V.; TAVARES, C. A. P.; CISALPINO, E. O.; VIEIRA, E. C. **Extraction, partial purification and characterization of a bacteriocin (fragilicin) produced by a strain of *Bacteroides fragilis* isolated from *Callithrix penicillata*.** *Res Microbiol.*, v. 145, p. 9-16. 1994.
9. GÁLVEZ, A.; ABRIQUEL, H.; LÓPEZ, R. L.; OMAR, N. B. **Bacteriocin-based strategies for food biopreservation.** *Int. J. Food Microbiol.* v.120, p. 51-70. 2007.
10. HAMADA, S. & OOSHIMA, T. **Production and properties of bacteriocins (mutacins) from *Streptococcus mutans*.** *Arch Oral Biol.*, v.20, p.641-648. 1975.
11. KEKESSEY, D. A. & PIQUET, J. D. **New method for detecting bacteriocin production.** *J Appl Microbiol*, v. 20, p. 282–283. 1970.
12. KRIER, F.; REVOL-JUNELLES, A. M.; GERMAIN, P. **Influence of temperature and pH on production of two bacteriocins by *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *Mesenteroides* FR52 during batch fermentation.** *Appl Microbiol Biotechnol.*, v.50, p.359-63.1998.
13. LEJEUNE, R.; CALLEWAERT, R.; CRABBÉ, K.; DE VUYST, L. **Modelling the growth and bacteriocin production by *Lactobacillus amylovorus* DCE 471 in batch cultivation.** *J Appl*

14. MOREIRA, J. S.; OLIVEIRA, J. S.; BEMQUERER, M. P.; MACHADO-DE-ÁVILA, R. A.; SANTOS, D. M.; MATOS, D. C.; MARIA, B. T.; MAGALHÃES, P. P.; FARIAS, L. M. **Purification of multifunctional substances active against *Shigella sonnei***. *Int. J. Biol. Nat. Sci.*, v. 2, p. 14-30. 2022 (a).
15. MOREIRA, J. S.; OLIVEIRA, J. S.; MATOS, D. C.; MAGALHÃES, P. P.; FARIAS, L. M. **Conjugative plasmids isolated from enteropathogen *Shigella sonnei* code antagonist substance(s) and antimicrobial resistance**. *Int. J. Biol. Nat. Sci.*, v. 2, p. 1-13. 2022 (b).
16. NAGARAJA, T. G.; NARAYANAN, S. K.; STEWART, G. C.; CHENGAPPA, M. M. ***Fusobacterium necrophorum* infections in animals: Pathogenesis and pathogenic mechanisms**. *Anaerobe*, v.11, p.239-46. 2005.
17. OLIVEIRA, A. A. P.; FARIAS, L. M.; NICOLI, J. R.; COSTA, J. E.; CARVALHO, M. A. R. **Bacteriocin production by *Fusobacterium* isolates recovered from the oral cavity of human subjects with and without periodontal disease and of marmosets**. *Res Microbiol.*, v.149, p.585-594. 1998.
18. PERRY, M. D.; VRANCKX, K.; COPSEY-MAWER, S.; SCOTFORD, S.; ANDERSON, B.; DAY, P.; WATKINS, J.; CORDEN, S.; HUGHES, H.; MORRIS, T. E. First large-scale study of antimicrobial susceptibility data, and genetic resistance determinants, in *Fusobacterium necrophorum* highlighting the importance of continuing focused susceptibility trend surveillance. *Anaerobe*, v.80, p. 1-7. 2023.
19. PILLAI, D. K.; AMACHAWADI, R. G.; BACA, G.; NARAYANAN, S.; NAGARAJA, T. G. **Leukotoxic activity of *Fusobacterium necrophorum* of cattle origin**. *Anaerobe*, v. 56, p. 51–56. 2019.
20. PORTRAIT, V.; COTTENCEAU, G.; PONS, A. M. A *Fusobacterium mortiferum* strain produces a bacteriocin-like substance(s) inhibiting *Salmonella enteritidis*. *Lett Appl Microbiol*, v.31, 115–117. 2000.
21. RIBEIRO-RIBAS, R. N. **Extração, purificação e caracterização parcial de bacteriocina produzida por *Fusobacterium nucleatum***. 107f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Microbiologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.
22. RIBEIRO-RIBAS, R. N.; DE CARVALHO, M. A.; VIEIRA, C. A.; APOLÔNIO, A. C.; MAGALHÃES, P. P.; MENDES, E. N.; OLIVEIRA, J. S.; SANTORO, M. M.; FARIAS, L. M. **Purification and partial characterization of a bacteriocin produced by an oral *Fusobacterium nucleatum* isolate**. *J Appl Microbiol.*, v.107, p.699-705. 2009.
23. RILEY, M. A. & WERTZ, J. E. **Bacteriocin diversity: ecological and evolutionary perspectives**. *Biochimie*, v.84, p.357-64. 2002.
24. RIORDAN, T. **Human infection with *Fusobacterium necrophorum* (Necrobacillosis) with a focus on Lemierre’s Syndrome**. *Clin Microbiol Rev.*, v.20, p.622-59. 2007.
25. SCHÄGGER, H. & VON, JAGOW. G. **Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa**. *Anal Biochem.*,

v.166, p. 368-79. 1987.

26. SMITH, G. R. & THORNTON, E. A. **Pathogenicity of *Fusobacterium necrophorum* strains from man and animals.** *Epidemiol Infect*, v.110, p.499-506. 1993.

27. SOUSA, M. A. B.; MENDES, E. N.; APOLÔNIO, A. C. M.; FARIAS, L. M.; MAGALHÃES, P. P. **Bacteriocin production by *Shigella sonnei* isolated from faeces of children with acute diarrhea.** *APMIS*, v. 118, p.125-135. 2010.

28. SOUSA, M. A. B.; FARIAS, L. D. M.; OLIVEIRA, P. L. D.; MOREIRA, J. S.; APOLONIO, A. C. M.; OLIVEIRA, J. S.; SANTORO, M. M.; MENDES, E.N.; MAGALHAES, P. P. **Antagonistic activity expressed by *Shigella sonnei*: identification of a putative new bacteriocin.** *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v.108, p. 724-729. 2013.

29. THAPA, G.; JAYAL, A.; SIKAZWE, E.; PERRY, T.; BALUSHI, A. M. A.; LIVINGSTONE, P. **A genome-led study on the pathogenesis of *Fusobacterium necrophorum* infections.** *Gene*, v. 840, p. 1-8. 2022.

30. TURNER, J. W. & JORDAN, H. V. **Bacteriocin-like activity within the genus *Actinomyces*.** *J Dent Res.*, v.60, p. 1000-1007. 1981.

31. YAMAMOTO, Y.; TOGAWA, Y.; SHIMOSAKA, M.; OKAZAKI, M. **Purification and characterization of a novel bacteriocin produced by *Enterococcus faecalis* strain RJ-11.** *Appl Environ Microbiol.* v.69, p. 5746-5753. 2003.

32. WAHREN, A.; BERNHOLM K.; HOLME, T. **Formation of proteolytic activity in continuous culture of *Sphaerophorus necrophorus*.** *Acta Pathol Microbiol Scand Sect B.*, v.79, p.391-98. 1971.

# QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DE RESIDÊNCIAS LOCALIZADAS NO MUNICÍPIO DE SATUBA/AL

*Data de submissão: 11/06/2023*

*Data de aceite: 03/07/2023*

### **Laissa Cibele Silva Lins**

Centro Universitário Cesmac  
Maceió – Alagoas

### **Letícia Maria Cirilo da Silva**

Centro Universitário Cesmac  
Maceió – Alagoas

### **Eliane Costa Souza**

Centro Universitário Cesmac  
Maceió – Alagoas

<http://lattes.cnpq.br/8850337692948178>

d'água e 60% do sistema de abastecimento público estão contaminadas com coliformes totais e, portanto, estão impróprias para consumo humano. Independente da forma de abastecimento de água foi verificado que ocorreu contaminação bacteriana, podendo desencadear doenças hídricas graves, sendo necessária intervenção das empresas fiscalizadoras para encontrar soluções a esses problemas de contaminação.

**PALAVRAS-CHAVE:** Água potável. Doenças de veiculação hídrica. Higiene.

**RESUMO:** A água de consumo humano é o principal veículo de transmissão de patógenos capazes de causar complicações gastrointestinais, sendo vital o seu controle microbiológico. O objetivo deste estudo é divulgar dados referentes a qualidade microbiológica da água de residências, localizadas no município de Satuba/AL. Foi solicitado, pelos pesquisadores, a Secretaria de Vigilância Sanitária do município de Satuba/AL, os resultados dos laudos microbiológicos, do ano de 2019, referentes às análises da água de abastecimento de 16 residências. De acordo com os resultados 100% das amostras de poços artesianos, 88,8% das caixas

## MICROBIOLOGICAL WATER QUALITY OF RESIDENCES LOCATED IN THE MUNICIPALITY OF SATUBA/AL

**ABSTRACT:** Water for human consumption is the main vehicle for the transmission of pathogens capable of causing gastrointestinal complications, and its microbiological control is vital. The objective of this study is to disseminate data regarding the microbiological quality of water from homes located in the municipality of Satuba/AL. The researchers requested the results of the microbiological reports of the year 2019, referring to the analysis of the water supply of 16 residences. According to



the results 100% of the samples from artesian wells, 88.8% of the water tanks and 60% of the public supply system are contaminated with total coliforms and are therefore unfit for human consumption. Regardless of the form of water supply, it was verified that bacterial contamination occurred, which can trigger serious water diseases, requiring intervention of the inspection companies to find solutions to these contamination problems.

**KEYWORDS:** Drinking water. Waterborne diseases. Hygiene.

## INTRODUÇÃO

De todos os corpos hídricos do Brasil, apenas 3% estão localizados na região Nordeste, dos quais 63% estão concentrados na Bacia do Rio São Francisco e 15% na Bacia do Rio Parnaíba, respondendo juntos por 78% do volume de água da região. Os outros 22% estão espalhados por 450 grandes barragens, aquíferos profundos e 100.000 poços tubulares perfurados. No entanto, a maior parte da água desses poços é salobra e imprópria para consumo humano, mas mesmo assim, devido à falta de outras fontes de água, eles ainda são usados por comunidades dispersas e podem representar risco à saúde humana, principalmente para grupos de risco, como idosos e crianças (BRITO; SILVA; PORTO, 2007).

O uso e o abastecimento de água potável sempre foi uma preocupação em todo o mundo. Essas preocupações dizem respeito ao seu uso primário e à sua manutenção como necessidade fisiológica para a população, tanto em quantidade quanto em qualidade própria para o consumo. (WASHINGTON, 2001).

Um dos maiores problemas com a água utilizada pelo ser humano é aquele relacionado à qualidade sanitária insatisfatória da água que muitas vezes causa problemas como infecções gastrointestinais, podendo se tornar um problema de Saúde Pública (AMORIM; PORTO; MATOS, 2009).

O consumo de água contaminada está diretamente relacionado às más condições de saneamento básico, fato este que eleva o número dos casos de doenças de veiculação hídrica que afetam a população em geral e causam óbitos, sendo a febre tifoide, cólera e hepatites A e E, algumas das doenças causadas por bactérias e vírus patogênicos (SILVA et. al., 2017).

A análise microbiológica da água é de grande importância tendo em vista ser um dos parâmetros exigidos pela legislação brasileira, no intuito de assegurar água de qualidade para a população. Famílias com baixa renda utilizam a água da torneira para consumo diário. Dessa forma, a realização das análises microbiológicas é de fundamental importância para esta parcela da população (GOMES; SIQUEIRA, 2019). Portanto o objetivo deste estudo é divulgar dados referentes a qualidade microbiológica da água de residências, localizadas no município de Satuba/AL.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Previamente foi solicitado, pelos pesquisadores, a Secretaria de Vigilância Sanitária do município de Satuba/AL, os resultados dos laudos microbiológicos, do ano de 2019, referentes às análises da água de abastecimento das residências.

Os parâmetros microbiológicos utilizados nesse estudo foram da Portaria 2914 que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade (Quadro1) (BRASIL, 2011).

Quadro 01: Anexo I da Portaria 2914/2011 – Padrões microbiológicos da água para consumo humano no Brasil.

MICRO-ORGANISMOS		VALOR DE REFERÊNCIA (VMP*)
<b>Água para consumo humano</b>		
<i>Escherichia coli</i>		Ausência em 100 mL
<b>Na saída do tratamento</b>		
<i>Escherichia coli</i>		Ausência em 100 mL
Coliformes Totais		Ausência em 100 mL
<b>Nos sistema de distribuição (reservatório e rede)</b>		
<i>Escherichia coli</i>		Ausência em 100 mL
Coliformes Totais	Sistemas ou soluções alternativas coletivas que abastecem menos de 20.000 habitantes.	Apenas uma amostra, entre as amostras examinadas no mês, poderá apresentar resultado positivo.
	Sistemas ou soluções alternativas coletivas que abastecem a partir de 20.000 habitantes	Ausência em 100 mL em 95% das amostras examinadas no mês.

\*VMP – Valor Máximo Permitido

Fonte: BRASIL, 2011.

## RESULTADOS

Em 2019 a Vigilância Sanitária realizou análise microbiológica da água de abastecimento de 16 residências. De acordo com o Quadro 01, a presença de coliformes totais foi identificada na água de três residências que utilizavam a Rede Pública (SAA), oito que utilizavam caixas d' água (SAC) e duas que utilizavam poços artesianos (SAI). Já a presença da bactéria *Escherichia coli* foi detectada na água de uma residência que utilizava a Rede Pública (SAA), três que utilizavam caixas d' água (SAC) e uma de poço artesiano (SAI).

**Tabela 1.** Percentuais dos resultados da análise microbiológica para presença e ausência de micro-organismos em diversos tipos de abastecimento de água na cidade de Satuba - AL.

TIPOS DE ABASTECIMENTO	Nº AMOSTRA	MICRO-ORGANISMOS							
		Coliformes totais				<i>Escherichia coli</i>			
		Pres.	%	Aus.	%	Pres.	%	Aus.	%
REDE PÚBLICA	05	03	60	02	40	01	20	04	80
CAIXA D'ÁGUA	09	08	89	01	11	03	27	06	73
POÇO ARTESIANO	02	02	100	0	0	01	50	01	50

Pres. (Presença); Aus. (Ausência).

Fonte: Dados da Pesquisa, (Satuba, 2019)

A garantia da qualidade da água de abastecimento público interessa aos mais diversos setores, levando-os a desenvolver modelos de uso e gestão que conciliem o aumento da demanda com a relativa escassez de produtos com a qualidade desejada.

Alves, Odorizzi e Goular (2002) A análise microbiológica do sistema público de abastecimento de água da cidade de Marilla-SP constatou que 5,5% das amostras estavam contaminadas com coliformes totais, diferentemente aos resultados deste estudo. Esta informação é importante para a saúde pública porque bactérias como a *E. coli* são a causa mais comum de diarreia em todo o mundo. Conforme ainda a Tabela 1, 81,25% e 31,25% das águas pesquisadas apresentou positividade para coliformes totais e *Escherichia coli* respectivamente. Esses resultados mostram-se superiores aos experimentados por Nogueira et al. (2003) para águas tratadas pelo sistema público e coletadas na região de Maringá (PR).

A presença de *Escherichia coli* é extremamente preocupante, haja vista que esse micro-organismo pode acometer desde uma simples gastroenterite ou evoluir até casos letais, principalmente em crianças, idosos, gestantes e imunodeprimidos (FRANCO; LANDGRAF, 2008)

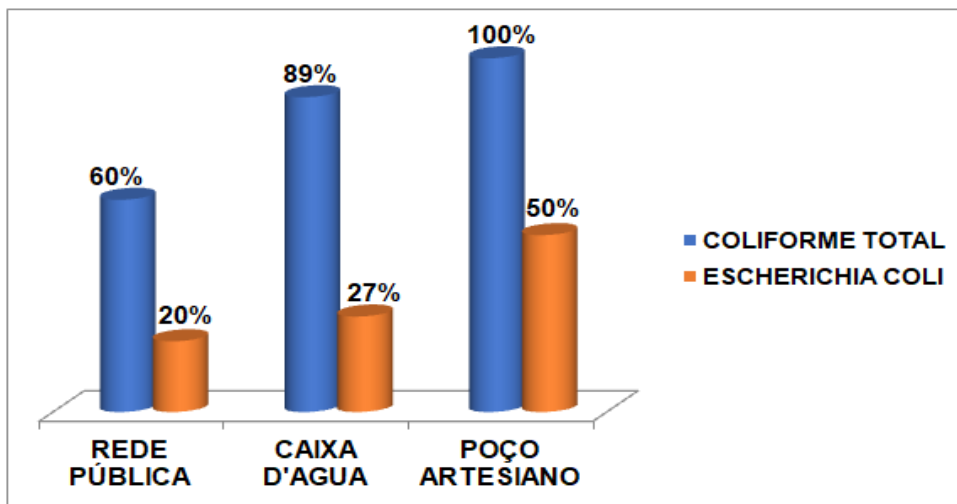
Esse fato ainda chama atenção para a necessidade de monitoramento da qualidade microbiológica das águas empregadas na produção de refeições, pois estas mesmas, se não estiverem em conformidade com a legislação vigente, poderão levar a surtos de infecções alimentares. A água pode ser contaminada no ponto de origem, durante a sua distribuição e, principalmente, nos reservatórios particulares, sejam eles de empresas ou residências. Segundo Germano e Germano (2003), as causas mais frequentes da contaminação da água nesses reservatórios, caixas d'água e cisternas, e a carência de um programa de limpeza regular e periódico.

As águas subterrâneas, como os poços artesianos perfurados, têm capacidade de fornecer água para toda a cidade. No Brasil, onde 53% dos municípios fazem isso, os

poços artesianos geram enormes benefícios econômicos, sociais e ambientais. A água subterrânea costuma ser 50% mais barata do que a água das empresas públicas (BICUDO; TUNDISI; SCHEUENSTUHL, 2010).

Os valores encontrados nas análises 100% para coliformes totais e 50% para *Escherichia coli*, indicam um alerta de que esses poços artesianos estão irregulares para consumo humano. Essas evidências são preocupantes para a saúde daqueles que estão sujeitos ao consumo de micro-organismos patogênicos apontando que pode haver uma falta de manutenção e cuidado com a água obtida. Os coliformes totais são muito utilizados nas análises de potabilidade de água, e classificam-se como um dos parâmetros básicos no controle microbiológico (TEDESCO; OLIVEIRA; TROJAN, 2021).

A presença de *Escherichia coli* indica contaminação por material fecal de animais de sangue quente sendo um dos principais agentes causais de diarreia em crianças nos países em desenvolvimento (SILVA et al., 2019).



**Gráfico 01.** Resultado percentual da análise da presença de Coliformes totais e *Escherichia coli* em diversos serviços de abastecimento nas residências da cidade de Satuba/AL. Fonte: Dados da pesquisa (Satuba, 2019).

De acordo com os resultados encontrados no Gráfico 1, 100% das amostras de poços artesianos, 88,8% das caixas d'água e 60% do sistema de abastecimento estão contaminadas com coliformes totais e, portanto, estão impróprias para consumo humano.

Segundo a RDC 216 (2004), as caixas d'água, devem ser higienizadas no mínimo de 6 em 6 meses. As tubulações das residências também devem ser vistoriadas uma vez que estas costumam ser antigas por falta de manutenção podendo comprometer a água disponibilizada pela rede pública, vale salientar que os poços artesanais devem ser cobertos e localizados distante de fossas sépticas.

## CONCLUSÃO

Independente da forma de abastecimento de água foi verificado que ocorreu contaminação bacteriana, podendo desencadear doenças hídricas graves, sendo necessário intervenção das empresas fiscalizadoras para encontrar soluções a esses problemas de contaminação, para minimizar problemas maiores de saúde pública, como também a adoção, por parte da Vigilância Sanitária de Satuba, de um programa de educação sanitária para a população a respeito das Doenças Transmitidas por alimentos e água.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, N. C.; ODORIZZI, A. C.; GOULART, F. C. Análise microbiológica de águas minerais e de água potável de abastecimento, Marília, SP. **Revista Saúde Pública**, n. 36, 2002.
- AMORIM, M. C.C.; PORTO, E. R.; MATOS, A. N. B. Conformidade de padrões microbiológicos de água para consumo humano de uma solução alternativa de abastecimento em atalho, Petrolina, PE. **Anais do 7º Simpósio Brasileiro de Captação e Manejo de Água de chuva**. Caruaru-PE, 2009.
- BARROS, F. G. N.; AMIN, M. M. Água: um bem econômico de valor para o Brasil e o mundo. **Revista brasileira de gestão e desenvolvimento regional**. v. 4, n. 1. Brasil, 2008.
- BICUDO, C. E. ; TUNDISI, J. G.; SCHEUENSTUHL, M. C. B. Águas do Brasil: análises estratégicas. **Instituto Botânica**, 2010. Disponível: <http://www.abc.org.br/IMG/pdf/doc-6820.pdf>. Acesso em: 15 de abril 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde (Brasil). Portaria nº. 2.914, de 12 de dezembro de 2011. **Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade**. Diário Oficial da União 16 dez 2011; seção 1. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914\\_12\\_12\\_2011.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html). Acesso em: 01 de maio de 2022.
- BRITO, L. T. L.; SILVA, A. S.; PORTO, E. R. Disponibilidade de água e a gestão dos recursos hídricos. Potencialidades da **água** de chuva no semi-árido brasileiro. Petrolina: **Embrapa Semi-Árido**, v.1, p. 15-32. 2007.
- FRANCO, D. G. M. F.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. 4 ed. São Paulo: Atheneu; 2008.
- GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Varela; 2003.
- GOMES, M. A. F.; SIQUEIRA, V. M. **Análise microbiológica de água de torneiras residenciais no município de Serra Talhada-PE** / . Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Unidade Acadêmica de Serra Talhada, 2019.
- IBGE. Banco de dados: Cidades, Vitória da Conquista, 2020. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ba/vitoria-da-conquista/panorama>. Acesso: 20 de janeiro de 2022.
- NOGUEIRA, G et al. Qualidade microbiológica da água potável de comunidades urbanas e rurais. **Revista Saúde Pública**, v. 2, p. 232-236, 2003.

SILVA, S. A et al. Saneamento Básico e Saúde Pública na Bacia Hidrográfica do Riacho Reginaldo em Maceió – Alagoas. **Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental**. v. 22, n. 4, Jul/ago 2017.

SILVA, C. R et al. Avaliação da presença e quantificação de coliformes totais e *Escherichia coli* em amostras de água destinada ao consumo humano proveniente de poços artesianos. Semina: **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 40, p. 129- 140. 2019. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/en/biblio-1223869>. Acesso em: 15 de maio de 2023.

TEDESCO, A. M.; OLIVEIRA, G. A.; TROJAN, F. Avaliação da vulnerabilidade à contaminação das águas subterrâneas por meio dos métodos AHP e TOPSIS. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, n. 26, p. 401-407. 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/esa/a/XnLJNmCCTdVpNJT8KzMGQK/?lang=pt>. Acesso em 15 de maio de 2023.

WASHINGTON, D.C. Informe Regional sobre a Avaliação 2000 na Região das Américas: Água Potável e Saneamento, Estado Atual e Perspectivas. Organização Pan-Americana da Saúde, 2001.

# SÍNTESE DE TRIAZOL COM PROPRIEDADE ANTIBACTERIANA

*Data de submissão: 21/05/2023*

*Data de aceite: 03/07/2023*

### **Alcino Palermo Aguiar**

Orientador: Professor Doutor em Química Orgânica e Professor Titular do Instituto Militar de Engenharia – Seção de Ensino de Engenharia Química (SE/5)  
Rio de Janeiro – RJ  
<https://www.escavador.com/sobre/592079/alcino-palermo-de-aguiar>

### **Victor Hugo Vimercate Silva Oliveira**

Orientado: Aluno do 4º ano do Curso de Formação e Graduação (CFG) em Engenharia Química do Instituto Militar de Engenharia – Seção de Ensino de Engenharia Química (SE/5)  
Rio de Janeiro – RJ  
<http://lattes.cnpq.br/3587112055903788>

**RESUMO:** A resistência bacteriana se tornou um problema de saúde pública a nível mundial. O uso sistemático de antibióticos no tratamento de diferentes doenças tem favorecido o aparecimento de cepas resistentes. Desta forma, o desenvolvimento de novos fármacos mais eficientes tem sido o foco de diversos grupos de pesquisa ao longo dos anos. Neste contexto o núcleo 1,2,3-triazol vem sendo o foco de diferentes trabalhos investigando métodos de síntese ou suas propriedades

biológicas, dentre as quais podem ser destacadas: anticancerígena, antiepiléptica, antialérgica e antibiótica. Este projeto teve como objetivo a síntese de dois derivados do núcleo triazol (1-(3-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il-metanol e 1-(2-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il-metanol), os quais podem ser precursores de bis-triazóis com atividade antibiótica. Estes compostos foram sintetizados a partir da reação de cicloadição das respectivas arilazidas a álcool propargílico. Os derivados de anilina (2-cloroanilina e 3-cloroanilina) foram tratados com nitrito de sódio e HCl (5 °C / 4h) para produzir os respectivos sais de diazônio, os quais após reação com azida de sódio forneceram 2-clorofenil azida e 3-clorofenilazida com rendimentos de 76 % e 87 %. As reações de cicloadição das azidas com o álcool propargílico foram conduzidas a 27°C por 48 h, fornecendo dois diferentes produtos sólidos amarelados, os quais foram purificados por cromatografia em coluna flash empregando gel de sílica como suporte. Os triazóis orto- e meta-substituídos foram obtidos em rendimentos globais de 32 % e 44 %, respectivamente. Os triazóis foram caracterizados pelos seus pontos de fusão (orto: 84–86 °C e meta: 90–92 °C), bem como pelas absorções na

região do infravermelho.

**PALAVRAS-CHAVE:** Síntese de triazol. 1,2,3-triazol. Bis-triazóis. Cicloadição. Arilazida.

## SYNTHESIS OF TRIAZOLE WITH ANTIBACTERIAL PROPERTIES

**ABSTRACT:** Bacterial resistance has become a global public health problem. The systematic use of antibiotics in the treatment of various diseases has favored the emergence of resistant strains. Therefore, the development of new, more effective drugs has been the focus of several research groups over the years. In this context, the 1,2,3-triazole nucleus has been the subject of different studies investigating synthesis methods or its biological properties, including anticancer, antiepileptic, antiallergic, and antibacterial activities. This project aimed to synthesize two derivatives of the triazole nucleus (1-(3-chlorophenyl)-1H-1,2,3-triazol-4-ylmethanol and 1-(2-chlorophenyl)-1H-1,2,3-triazol-4-ylmethanol), which can serve as precursors for bis-triazoles with antibacterial activity. These compounds were synthesized by the cycloaddition reaction of their respective arylazides with propargyl alcohol. The aniline derivatives (2-chloroaniline and 3-chloroaniline) were treated with sodium nitrite and HCl (5 °C / 4h) to produce the respective diazonium salts, which, upon reaction with sodium azide, provided 2-chlorophenyl azide and 3-chlorophenyl azide with yields of 76% and 87%, respectively. The cycloaddition reactions of the azides with propargyl alcohol were conducted at 27°C for 48 hours, yielding two different yellow solid products, which were purified by flash column chromatography using silica gel as a support. The ortho- and meta-substituted triazoles were obtained with overall yields of 32% and 44%, respectively. The triazoles were characterized by their melting points (ortho: 84–86 °C; meta: 90–92 °C) as well as their infrared absorption bands.

**KEYWORDS:** Triazole synthesis. 1,2,3-triazole. Bis-triazoles. Cycloaddition. Arylazide.

## INTRODUÇÃO

Após a utilização dos antibióticos para o tratamento de doenças causadas por microorganismos, a resistência das bactérias se tornou um problema de saúde pública a nível mundial.<sup>[1]</sup> Esta crise tem sido atribuída ao uso de maneira excessiva e inadequada dos antibióticos e à falta do desenvolvimento de novos.<sup>[2]</sup>

A descoberta de antibióticos no século XX se tornou a solução para muitas doenças infecciosas, e desta maneira a utilização exagerada e a mutação genética resultou em uma adaptação das bactérias, tornando-se resistentes aos mesmos ao longo dos anos. Durante o século XXI, poucos antibióticos foram introduzidos no mercado, apenas a linezolidina em 2001, a daptomicina em 2003, com a volta das pesquisas de antibióticos em fontes naturais, e a ceftarolina.<sup>[3]</sup>

Dentre as substâncias pesquisadas que apresentam atividade biológica, os heterociclos são as que mais têm se destacado nos últimos anos, sendo aplicados na agricultura<sup>[4]</sup>, sendo utilizados como grupos protetores<sup>[5]</sup> e também estando presentes em medicamentos<sup>[6]</sup>. Um anel heterociclo que se destacou muito nas aplicações da medicinais



foi o 1,2,3-triazol, devido as suas propriedades anticancerígena<sup>[7]</sup>, antiepiléptica<sup>[8]</sup>, antialérgica<sup>[9]</sup> e antibiótica.<sup>[10]</sup>

Alguns exemplos de derivados de 1,2,3-triazóis com atividade biológica são: CAI (carboxiamidotriazol, um anticarcinogênico), TSAO (um inibidor da enzima *Transcriptase reversa*), tazobactam e cefatrizina (antibióticos).<sup>[11]</sup>

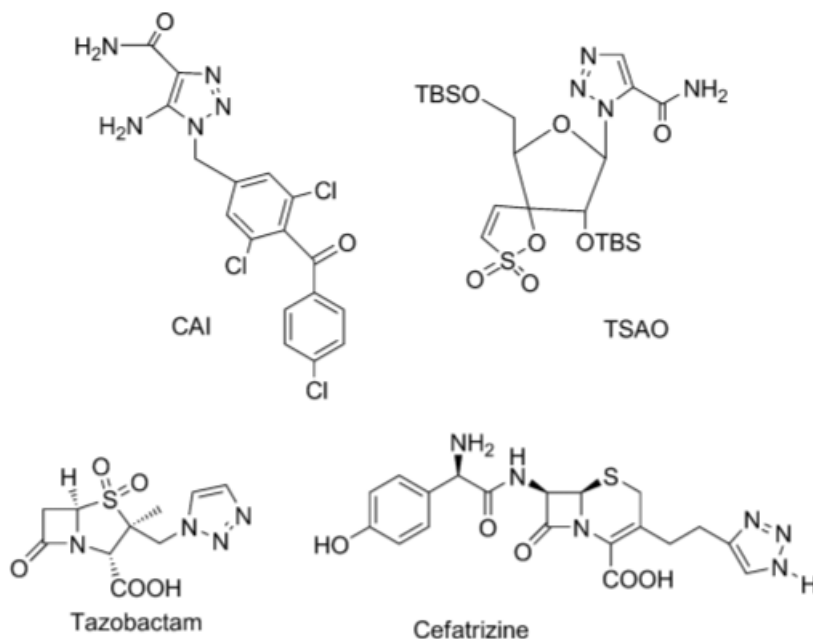


Fig.1: Exemplos de derivados de 1,2,3-triazóis bioativos.

A cicloadição 1,3-dipolar de azida e alquino é o método mais eficiente de sintetizar 1,2,3-triazóis. Sabendo da grande capacidade biológica dos triazóis e dos bis-triazóis, principalmente na atividade antimicrobiana, existe um esforço contínuo das pesquisas para a descoberta de novas moléculas, uma vez que os resultados biológicos que já foram obtidos revelaram que a maioria dessas moléculas são antimicrobianos potentes.<sup>[12]</sup>

## OBJETIVOS

### 1 | OBJETIVO GERAL

O objetivo do projeto é sintetizar dois derivados de 1,2,3-triazol, potenciais reagentes para reações de síntese de 1,2,3-bistriazóis, que podem apresentar atividade biológica. São eles: 1-(3-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il-metanol e 1-(2-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il-metanol, através de reações de cicloadição.

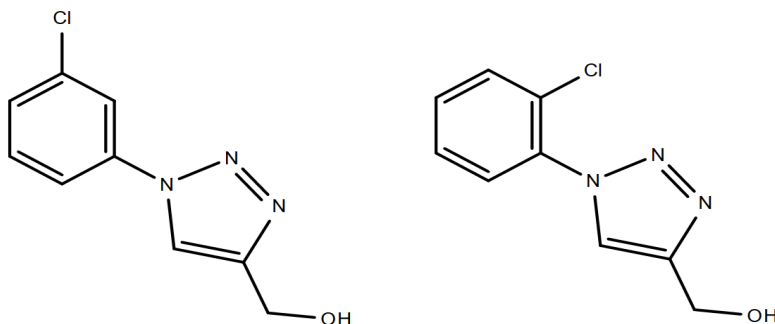


Fig.2: Moléculas alvo do projeto: 1-(3-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il-metanol e 1-(2-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il-metanol, da esquerda para a direita.

## 2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Partindo de dois derivados de anilina (2-cloroanilina e 3-cloroanilina) sintetizar as respectivas azidas;
- Extrair e concentrar as azidas formadas;
- Fazer uma reação de cicloadição com o álcool propargílico; e
- Purificar e analisar o produto final no infravermelho (FTIR).

## PROCEDIMENTOS

### 3 | SÍNTESE DE AZIDAS ORGÂNICAS

1,5 mL (14,2 mmol) de 3-cloroanilina foram dissolvidos em 14,0 mL de uma solução de ácido clorídrico (HCl) 6 N, em um balão sob agitação magnética e em banho de gelo. Foi adicionado ao balão uma solução de 1,47 g (21,3 mmol) de nitrito de sódio (NaNO<sub>2</sub>) dissolvidos em 36,0 mL de água. A mistura foi agitada por 30 minutos, e em seguida, foi adicionada uma solução de 3,70 g (56,9 mmol) de azida de sódio em 71,0 mL de água. A mistura foi agitada por mais 4 horas a temperatura ambiente.

Para sintetizar a segunda azida orgânica, foram utilizados 1,5 mL (14,2 mmol) de 2-cloroanilina, no lugar de 3-cloroanilina, e os procedimentos foram repetidos.

### 4 | EXTRAÇÃO E CONCENTRAÇÃO DA SOLUÇÃO

A mistura oriunda da síntese das azidas foi retirada da agitação, e as arilazidas foram extraídas com etilacetato. O extraído foi adicionado de sulfato de sódio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) anidro, para retirar a água em excesso, e o solvente orgânico foi retirado utilizando o rotaevaporador, concentrando o produto final.

## 5 | SÍNTESE DE DERIVADOS DE 1,2,3-TRIAZÓIS

Foram adicionados em um bécker: 0,25 g (1,4 mmol) de ácido ascórbico, 0,13 g (0,5 mmol) de sulfato cúprico pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), 0,12 g (1,4 mmol) de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) e 5,0 mL de água, formando a mistura 1.

Em um balão de fundo redondo, foram adicionados: 0,8 mL (6,6 mmol) da 3-clorofenilazida, 4,5 mL de t-butanol, a mistura 1 e 0,47 mL (8,1 mmol) de álcool propargílico. A mistura formada, ficou sob agitação magnética por um período de 48 horas.

Após a agitação, o produto foi extraído com acetado de etila, e um sólido foi obtido através da retirada do solvente com o rotaevaporador.

Para a segunda cicloadição, os procedimentos foram repetidos, utilizando: 1,3 mL (10,7 mmol) de 2-clorofenilazida no lugar de 3-clorofenilazida; 0,41 g (2,3 mmol) de ácido ascórbico, 0,21 g (0,8 mmol) de sulfato cúprico pentahidratado, 0,20 g (2,3 mmol) de bicarbonato de sódio, 8,1 mL de água para a mistura 1; 7,3 mL de t-butanol e 0,76 mL (13,2 mmol) de álcool propargílico.

## 6 | PURIFICAÇÃO E ANÁLISE NO INFRAVERMELHO

Após evaporado o solvente, o sólido residual foi analisado através de um teste de ponto de fusão e através de cromatografia em camada fina. Determinado o melhor eluente, foi realizada a purificação do produto através de uma cromatografia de coluna sobre gel de sílica.

Ao separar o produto final dos derivados orgânicos, a solução foi levada novamente ao rotaevaporador para a retirada do solvente. Em seguida, foi medido novamente o ponto de fusão e o produto final foi levado para o laboratório de Análise Instrumental, para ser analisado o seu espectro no infravermelho.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 7 | SÍNTESE DE AZIDAS ORGÂNICAS

A primeira parte do projeto consiste na síntese das azidas orgânicas, 3-clorofenilazida e 2-clorofenilazida. Para que a reação ocorra é necessária a presença de nitrito em meio ácido, a primeira etapa consiste na formação do diazônio a frio, devido ao grupo  $-\text{NH}_2$  ligado ao anel. A segunda etapa consiste na adição de azida, que substituirá o grupo diazônio, sendo essa etapa facilitada em baixas temperaturas. Após quatro horas de agitação à temperatura ambiente, espera-se a formação completa da respectiva azida orgânica.



Fig.3: Reação de síntese da 3-clorofenilazida.

## 8 | EXTRAÇÃO E CONCENTRAÇÃO

Após o término da reação, foi necessário fazer uma extração do produto. Utilizou-se etilacetato para obter soluções das respectivas azidas na fase orgânica. O sulfato de sódio anidro foi utilizado para retirar-se a água residual, para que a solução orgânica, pudesse ser levada ao rotaevaporador, a fim de ser retirado o solvente.



Fig.4: 3-clorofenilazida em etilacetato com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e depois filtrada.

Devido a instabilidade das azidas em altas temperatura, o equipamento foi utilizado apenas até 60° C.



Fig.5: Rotaevaporador utilizado.

Ao término da retirada do solvente, os duas azidas orgânicas apresentaram-se no estado líquido, com um aspecto viscoso e coloração alaranjada.

Foi obtido um volume de 1,5 mL (12,4 mmol) de 3-clorofenilazida e 1,3 mL (10,8 mmol) de 2-clorofenilazida, rendimentos de 86,8 % e 76,2%, respectivamente.



Fig.6: 3-clorofenilazida após ser retirada do rotaevaporador.

## 9 | REAÇÃO DE CICLOADIÇÃO

A etapa de cicloadição é realizada na presença de íons cobre, a cicloadição 1,3-dipolar de azida e alquino fornecem uma mistura de produtos composta triazóis 1,4- e 1,5- dissustituído. Porém o cobre e condições mais brandas aumentam a especificidade do regioisômero 1,4-dissustituído.<sup>[13]</sup>

A mistura 1, utilizada na equação de cicloadição, é preparada com sulfato de cobre pentaidratado, bicarbonato de sódio e ácido ascórbico.



Fig.7: Reagentes utilizados para fazer a mistura 1.



Fig.8: Pesagem dos reagentes da mistura 1 para a cicloadição da 2-clorofenilazida: ácido ascórbico,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{NaHCO}_3$ .

As reações ficaram sob agitação durante um período de quarenta e oito horas, apresentando um aspecto coloidal e amarelado.

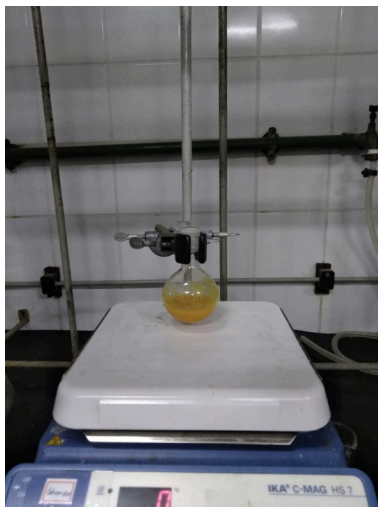


Fig.9: Reação de cicloadição da 2-clorofenilazida.

Ao término da reação o produto foi extraído novamente com acetado de etila, e colocado no rotaevaporador para a retirada do solvente. Foram obtidos dois sólidos, um sólido com aspecto amarelado mais claro (produto metassubstituído) e um sólido com uma coloração amarelada mais intensa (produto ortossubstituído).

Para a síntese do produto metassubstituído foi utilizado apenas 0,8 mL (6,6 mmol) de 3-clorofenilazida, enquanto para o produto ortossubstituído foi utilizado o volume total de 1,3 mL (10,8 mmol) de 2-clorofenilazida.

Os produtos finais obtidos foram 0.83 g (4,0 mmol) do metassubstituído e 1.31 g (6,2 mmol) do ortossubstituído. Rendimentos de 60,4 % e 57,4 %, respectivamente.



Fig.10: Produtos finais das cicloadições.

## 10 | ENSAIO DE PONTO DE FUSÃO

Antes de iniciar o processo de purificação do produto, foi realizado um teste de ponto de fusão, para verificar se o sólido formado apresentava um PF parecido com o valor encontrado na literatura.

Os valores encontrados para o produto impuro foram 88–90 °C para o produto metassubstituído e 82–85 °C para o ortossubstituído. Como os valores foram relativamente próximos aos valores reais (95–97 °C e 86–87 °C, respectivamente)<sup>[14]</sup>, os produtos foram levados à etapa de purificação.

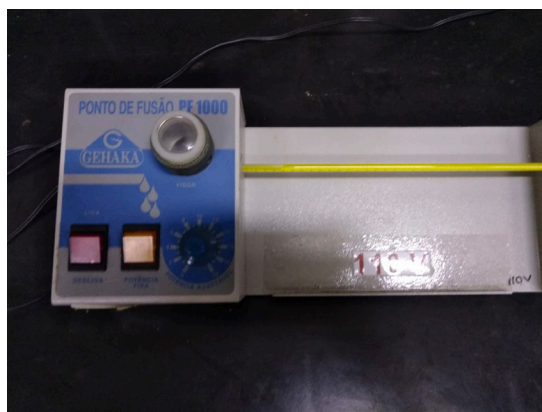


Fig.11: Equipamento utilizado para o Teste de Ponto de Fusão.

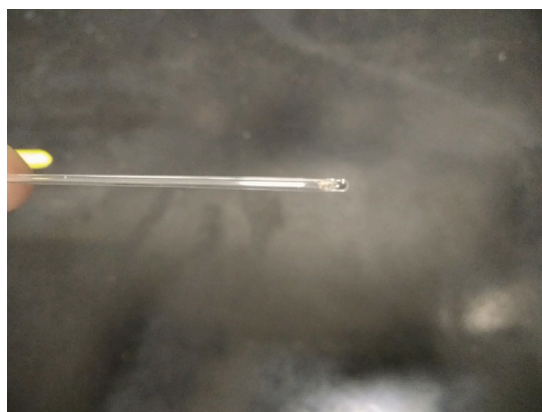


Fig.12: Tubo Capilar fechado contendo o produto metassubstituído.



## 11 | CROMATOGRAFIA DE COLUNA SOBRE GEL DE SÍLICA

Antes de se iniciar o processo de cromatografia de coluna, foi necessário descobrir quais seriam os melhores eluentes para cada um dos produtos.

Inicialmente foi feita uma cromatografia de camada fina com uma mistura equimolar de acetato de etila e cicloexano para cada um dos produtos.

O resultado encontrado foi que ambos os produtos continham impurezas (outras manchas nas placas) e que possuíam uma afinidade muito maior com a sílica do que com o eluente.

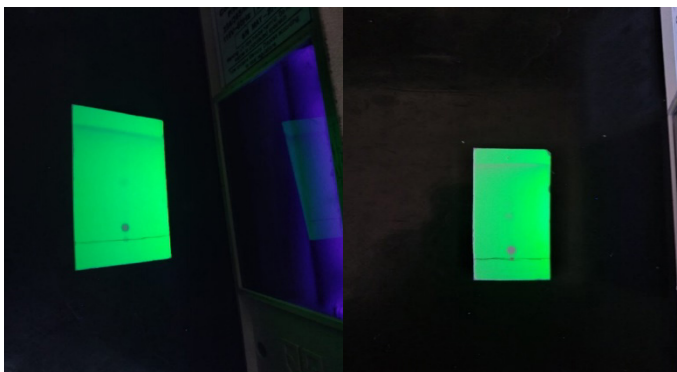


Fig.13: Cromatografia em camada fina com mistura acetato de etila e cicloexano dos produtos metassubstituído e ortossubstituído.

Concluindo que seria necessário aumentar a polaridade do eluente, a cromatografia de camada fina foi realizada novamente, porém utilizando apenas o acetato de etila. Apresentando um resultado melhor para a cromatografia.



Fig.14: Cromatografia em camada fina com acetato de etila dos produtos metassubstituído e ortossubstituído.

Após escolher o eluente a ser utilizado na cromatografia sobre coluna, foi pesada uma quantidade de sílica, para cada uma das colunas. A quantidade de sílica utilizada foi de 30 g para quantidades menores ou iguais a 0,50 g de produto e 10 g a mais de sílica para cada 0,10 g de produto a mais.

As quantidades utilizadas de produto para purificar foram de 0,40 g (1,9 mmol) do meta-triazol e 0,60 g (2,9 mmol) do orto-triazol. Portanto, as quantidades de sílica a serem utilizadas foram de aproximadamente 30 g e 40 g.

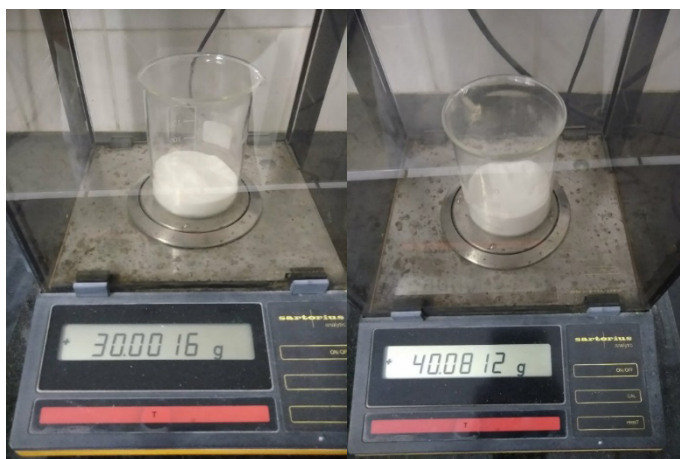


Fig.15: Sílica utilizada na cromatografia de coluna.



Fig.16: Vidraria utilizada na cromatografia de coluna.

Após o processo de separação foi feita uma cromatografia de camada fina nos frascos, a fim de determinar quais dos frascos apresentavam apenas o produto principal. Para o meta-triazol foram reunidos os conteúdos dos frascos 6 ao 39 e para o orto-triazol

foram reunidos os conteúdos dos frascos 4 ao 21.

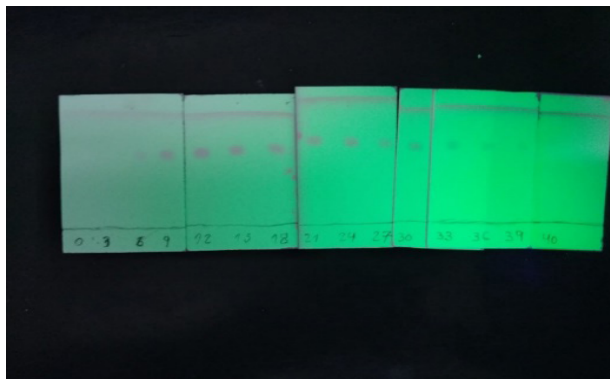


Fig.17: Cromatografia em camada fina do produto metassubstituído após a cromatografia de coluna.

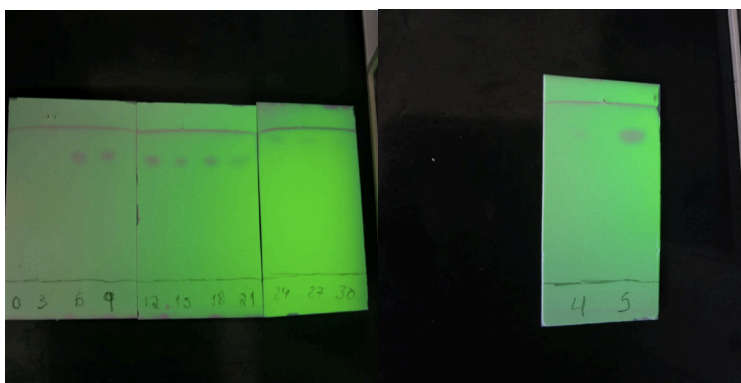


Fig.18: Cromatografia em camada fina do produto ortossubstituído após a cromatografia de coluna.

## 12 | PRODUTO FINAL

Os conteúdos reunidos dos frascos foram colocados em um balão de vidro e levados ao rotaevaporador mais uma vez para a retirada do solvente. O sólido obtido apresentou novamente uma coloração amarela mais clara (no produto metassubstituído) e amarela mais intensa (no produto ortossubstituído).

Foram repetidos os testes de ponto de fusão, e os valores encontrados para as temperaturas foram de 90–92 °C para o produto metassubstituído e 84–86 °C para o ortossubstituído, valores mais próximos aos valores reais, indicando que o grau de pureza do produto foi aumentado.



Fig.19: Produtos purificados após a cromatografia de coluna: produto metassubstituído e produto ortossubstituído.

Em seguida, os produtos foram pesados, e os valores de massa encontrados foram de 0,32 g (1,6 mmol) de meta-triazol e 0,44 g (2,1 mmol) de orto-triazol. As etapas de purificação apresentaram rendimentos de 81,4 % e 72,5 %, e os rendimentos globais das reações (incluindo a purificação) foram de 43,8% e 31,7 %, respectivamente.

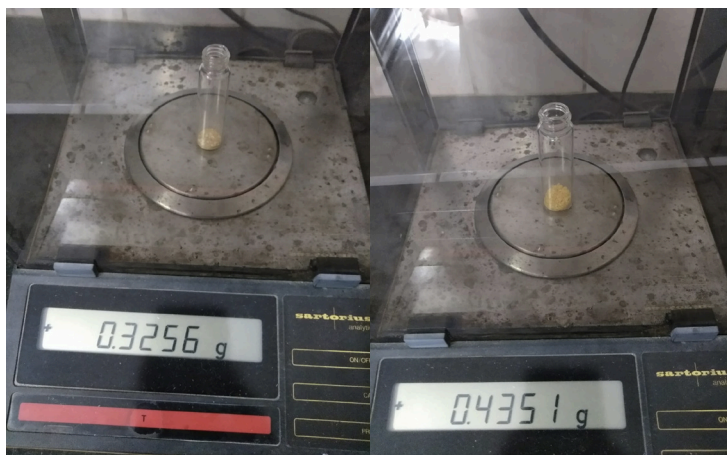


Fig.20: Medição da quantidade de produto formado, para o cálculo dos rendimentos das reações.

## 13 | ESPECTROS NO INFRAVERMELHO

O produto purificado foi levado para o laboratório de Análise Instrumental, para ser analisado. O teste de confirmação foi feito por um Espectrofotômetro de Infravermelho.

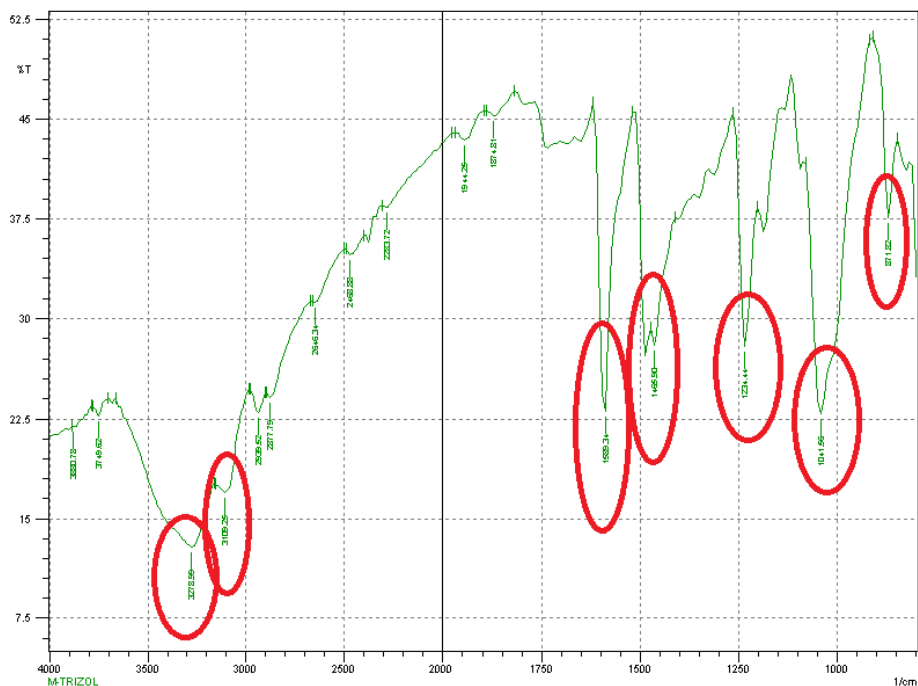


Fig.21: Espectro FTIR do produto metassubstituído (1-(3-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il-metanol).

As absorções na região do 3279 são características das ligações  $\text{-OH}$  e das ligações de hidrogênio e as absorções nas regiões próximas ao 3109 e 2900 são referentes as ligações  $\text{C-H}$  dos carbonos  $\text{sp}^2$  e  $\text{sp}^3$ <sup>[15]</sup>, a absorção em 1589 representa as ligações  $\text{C=C}$ <sup>[15]</sup>, as ligações  $\text{C-N}$  podem ser observadas na absorção de 1234, e de  $\text{C-O}$  em 1042, as absorções de anel metassubstituído seriam a de 871 e as de 784 e 671 (essas duas últimas estão fora da escala do espectro). As demais absorções: 1466 e uma próxima à 1480 conferem com as da molécula em questão.<sup>[14]</sup>

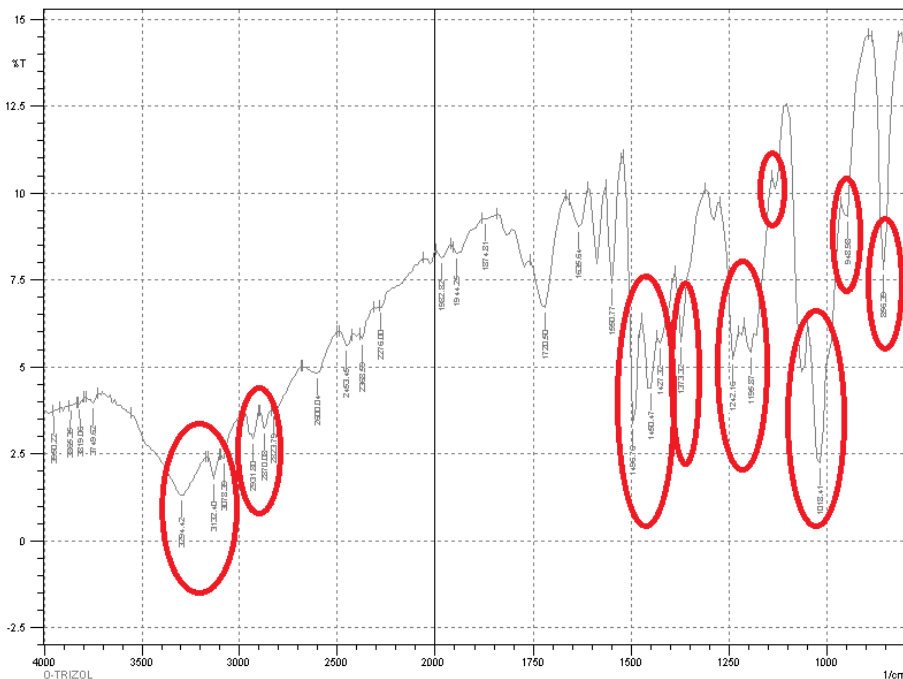


Fig.22: Espectro FTIR do produto ortossustituído (1-(2-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il-metanol).

As absorções na região do 3294, 3132 e 3078 são características das ligações –OH e das ligações de hidrogênio, as ligações simples entre carbonos, C–H  $sp^2$  e  $sp^3$  podem ser observadas em 2931, 2870, 2823, a absorção em 1242 provavelmente se refere a ligação C–N e a próxima ao 1018 à ligação C–O, uma absorção 765 (fora da escala) nessa molécula é característica do anel ortossustituído. As demais absorções: 1496, 1450, 1427, 1373, 1196, uma próxima ao 1120, 949 e 856 correspondem aos da molécula em questão. [14]

## CONCLUSÃO

Ao longo do projeto, pôde ser observado que o apesar das estruturas parecidas dos dois produtos e dos intermediários com características semelhantes (como densidade, massa molar), as duas reações se diferenciaram em alguns aspectos.

Tanto na formação da azida, quanto na etapa de cicloadição, a reação do produto metassustituído apresentou rendimentos maiores. Entretanto pode ser observado (Fig.13 e Fig.14), que o produto ortossustituído, possuía uma afinidade um pouco maior com o acetato de etila, levando a acreditar que essa diferença de polaridade foi o suficiente para gerar um produto mais puro após a cromatografica em coluna.

No aspecto final do produto também pode ser observado essa diferença, nas

Fig.19 e Fig.20 verifica-se que o produto ortossustituído aparenta estar mais fino, e no espectro do infravermelho se observa absorções mais largas no produto metassubstituído, possivelmente pela presença de água e alguns reagentes que não foram completamente separados.

Um rendimento mais baixo na etapa de purificação e um ponto de fusão final mais próximo do valor encontrado na literatura também nos leva a acreditar que o produto metassubstituído possui uma facilidade maior de ser purificado, talvez essa pequena diferença na polaridade também se reflita numa diferença na atividade biológica dos dois produtos.

Os dois derivados de 1,2,3-triazol ([1-(3-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il-metanol] e [1-(2-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il-metanol]) foram sintetizados, o próximo passo seria verificar se existe atividade bactericida dos mesmos, ou se a partir deles poderiam ser gerados os respectivos bis-triazóis, (através de uma desidratação intermolecular) com atividade biológica.

## REFERÊNCIAS

1. CABRERA, C. E.; GÓMEZ, R. F.; ZÚÑIGA, A. E. **La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación.** Colombia Medica, Vol. 38, n. 2, 200.
2. VENTOLA, C. L. **The Antibiotic Resistance Crisis Part 1: Causes and Threats.** P T, 40(4): 277–283, 2015 Apr.
3. GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. **Antibióticos: Importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes.** Química Nova, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.
4. RAFIN, C.; VEIGNIE, E.; SANCHOLLE M. **Synthesis and antifungal activity of novel bisdithiocarbamate derivatives of carbohydrates against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lini*.** J. Agric. Food Chem. 48 (2000) 5283–5287.
5. GREENE, T. W.; WUTS P. G. M. **Protecting Groups in Organic Synthesis**, 3rd ed., Wiley Interscience, New York, 1999, pp. 484–485.
6. GENIN M. J.; ALLWINE D. A.; ANDERSON D. J. **Substituent effects on the antibacterial activity of nitrogen-carbon-linked (azolyphenyl)oxazolidinones with expanded activity against the fastidious gram-negative organisms *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis*.** J. Med. Chem. 43 (2000) 953–970.
7. YU, J. L.; PORE Q. P.; ZHANG Q. S.; LIU Y. H.; LI Y. Z. & ZHOUS.M. **Bioorg Med Chem Lett.** 20, 2010, 240.
8. PALHAGEN S.; CANGER R.; HENRIKSEN O.; PARYS J. A. V.; RIVIERE M. E. & KAROLCHYK M. A., **Epilepsy Res**, 43, 2001, 115.
9. BUCKLE D. R.; ROCKELL C. J. M.; SMITH H. & SPICER B. A.; **J Med Chem**, 27, 1984, 223.

10. POKROVSKAYA V.; BELAKHOV V.; HAINRICHSON M.; YARON S. & BAASOV T.; **J Med Chem**, 52, 2009, 2243.
11. AGALAVE, S. G.; MAUJAN, S. R.; PORE, V. S. **Click Chemistry: 1, 2, 3-Triazoles as Pharmacophores**. *Chemistry an Asian Journal*, v. 6, p. 2696 – 2718, 2011.
12. Banday, A. H.; Shameem, S. A.; Ganai, B. A. **Antimicrobial studies of unsymmetrical bis-1,2,3-triazoles**. *Org Med Chem Lett*. 2012, 2, 13, published online 2012 Apr 4.
13. FREITAS, L.B.O.; RUELA, F.A.; PEREIRA, G.R.; ALVES, R. B.; FREITAS, R.P. F. **A reação “click” na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações**. *Química Nova*, v. 34, n. 10, p. 1791-1804, 2011.
14. BOECHAT, N.; FERREIRA, V. F.; Ferreira, S. B., Ferreira, M. L. G., Silva, F. C.; Bastos, M. M.; Costa, M. S.; Lourenço, M. C. S.; Pinto, A. C.; Krettli, A. U.; Aguiar, A. C.; Teixeira, B. M.; Silva, N. V.; Martins, P. R. C.; Bezerra, F. A. F. M.; Camilo, A. N. S.; Silva, G. B.; Costa, C. C. P. **Novel 1,2,3-Triazole Derivatives for Use against Mycobacterium tuberculosis H37Rv (ATTC 27294) Strain**. *J. Med. Chem.*, 2011, 54 (17), pp 5988–5999.
15. GANNARAPU, M. R.; VASAMSETTI, S. B.; PUNNA, N.; KOTAMRAJU, S.; BANDA, N. **Synthesis of novel 1-substituted triazole linked 1,2-benzothiazine 1,1-dioxido propenone derivatives as potent anti-inflammatory agents and inhibitors of monocyte-to-macrophage differentiation**. *Electronic Supplementary Material, Med. Chem. Commun.*, 2015,6, 1494-1500.



# TRANSPIRAÇÃO, BACTÉRIAS CAUSADORAS DE MAUS ODORES E DESODORANTES ANTITRANSPIRANTES COM NANOPARTÍCULAS PARA A REDUÇÃO DO MAL ODOR NAS AXILAS: REVISÃO

*Data de submissão: 03/05/2023*

*Data de aceite: 03/07/2023*

**Lucília Carolina Vardenski Costa**

Universidade Positivo

Curitiba – Paraná

<https://lattes.cnpq.br/2451701469775020>

**Lígia Alves da Costa Cardoso**

Universidade Positivo

Curitiba – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/5655205350391160>

**RESUMO:** Este capítulo tem como objetivo apresentar uma revisão de literatura sobre a transpiração, bactérias causadoras de maus odores e desodorantes antitranspirantes com nanopartículas para a redução do mal odor nas axilas. A pele é o principal órgão do corpo humano e também alvo de agressões exógenas, um dos meios de controle da ação dos fatores externos sobre a pele é a transpiração. O suor contém alguns ácidos carboxílicos que apresentam cheiros desagradáveis e é produzido pelas glândulas sudoríparas apócrinas, que por si só, não tem cheiro ruim, este cheiro é produzido apenas quando ocorre o crescimento de bactérias no local. A cada cinco desodorantes fabricados no mundo, um é consumido no Brasil. Seja por sua população numerosa ou pelo clima

predominantemente quente, que exige mais cuidados com a transpiração, o país lidera o mercado mundial de desodorantes. Frente a isso, os fatores mais determinantes na decisão de compra dos desodorantes são: eficácia e perfumação. A utilização de nano partículas como princípio ativo nos desodorantes, visam aumentar significativamente a profundidade de penetração máxima do produto, além de aumentar a taxa de permeação, aumentando sua ação e eficácia. As nano partículas cosméticas possuem ação antimicrobiana, antioxidante e de ação regeneradora do sistema epitelial e podem ser compostas por diversos óleos essenciais.

**PALAVRAS-CHAVE:** antimicrobiano, nanotecnologia, antitranspirante, óleos essenciais.

**PERSPIRATION, BACTERIA THAT CAUSE BAD ODOR AND ANTITRANSPIRANT DEODORANTS WITH NANOPARTICLES TO REDUCE BAD ODOR IN THE AXILLA: REVIEW**

**ABSTRACT:** This chapter aims to present a review about perspiration, bacteria that cause bad odor and antitranspirant deodorants with nanoparticles to reduce bad odor in the axilla. The skin is the main organ

of the human body and the target of exogenous aggression, one of the means of controlling the action of external factors on the skin is perspiration. Sweat contains some carboxylic acids that have unpleasant odors and is produced by the apocrine sweat glands, which does not smell bad, this smell is produced only when there is the growth of bacteria in the area. For every five deodorants manufactured in the world, one is consumed in Brazil. Whether because of its large population or the predominantly hot climate, which requires more care with perspiration, the country leads the world market for deodorants. Faced with this, the most determining factors in the decision to purchase deodorants are: effectiveness and fragrance. The use of nanoparticles as an active ingredient in deodorants aims to significantly increase the maximum penetration depth of the product, in addition to increasing the permeation rate, increasing its action and effectiveness. Cosmetic nanoparticles have antimicrobial, antioxidant and regenerative action of the epithelial system and can be composed of several essential oils.

**KEYWORDS:** antimicrobial, nanotechnology, antiperspirant, essential oil.

## INTRODUÇÃO

A transpiração é um fenômeno natural que permite ao corpo manter sua temperatura interna, apesar do aumento de temperatura causado pela intensificação do metabolismo durante o exercício físico. Esse fenômeno é essencial para o corpo, mas muitas vezes está associado ao aparecimento de compostos odoríferos que podem gerar um odor desagradável (FONTES et al., 2013). O suor recém-liberado é inodoro na pele, mas as bactérias presentes na pele serão responsáveis pelos odores percebidos (JAMES et al., 2013).

A pele, e mais particularmente a axila, é o local de residência de 3 principais gêneros bacterianos a *Corynebacterium*, o *Staphylococcus* e o *Propionibacterium* (FIORENTINO, 2009). Eles garantem a proteção do hospedeiro contra patógenos oportunistas, mas eles também são envolvidos na formação de odores de transpiração. Rennie et al. (1990) em seu estudo, conseguiram associar a presença de bactérias *Corynebacterium* aeróbio com a intensidade do odor axilar percebido. Porém, nenhuma relação pode ser estabelecida entre a quantidade de *Staphylococcus*, *Micrococcus* ou *Propionibacterium* e a intensidade do odor das axilas.

As soluções disponíveis e muito usados para lutar contra os odores do corpo são os desodorantes e os antitranspirantes. Os desodorantes neutralizam os efeitos do suor que contém, e há algum tempo o desodorante deixou de ser usado unicamente nas axilas, mas também no cabelo, pés, roupas, ambientes e até nos animais (KLASCHKA, 2012). Há também os antitranspirantes que têm o mesmo fim, porém agem de maneira diferente, eles provocam o fechamento de mais ou menos 50% das glândulas sudoríparas, reduzindo a eliminação de toxinas (EGBUOBI et al., 2013).

A cada cinco desodorantes fabricados no mundo, um é consumido no Brasil. Seja por sua população numerosa ou pelo clima predominantemente quente, que exige mais cuidados

com a transpiração, o país lidera o mercado mundial de desodorantes (EUROMONITOR INTERNACIONAL, 2021). O destaque fica para o formato aerossol, o aplicador que mais cresceu nos últimos anos – em 2009, os aerossóis representavam 31% do consumo brasileiro, em 2013, já eram 50%. Quando olhamos os hábitos dos consumidores, vemos que 40% declaram que o aerossol oferece mais proteção contra a transpiração, 29% dizem que garante maior proteção contra o odor e 28% reconhecem mais sensação de frescor (BRAZIL BEAUTY NEWS, 2021). Por esta razão, a indústria de aerossóis está sempre em busca por inovações, buscando diferentes partículas e compostos que possam melhorar a eficiência de seus produtos (GUBERT, 2011).

As nano partículas lipídicas foram introduzidas por Müller e Gasco no início dos anos 1990 como uma nova formulação baseada em nano partículas. As nano partículas à base de lipídios podem ser classificadas em dois grupos principais, incluindo nano partículas lipídicas e lipossomas. O uso de nano partículas compostas por óleos essenciais, tem mostrado seu efeito antimicrobiano, antioxidante, além da ação regeneradora do sistema epitelial (FERNANDES et al., 2013).

## 1 | TRANSPIRAÇÃO E MAUS ODORES DA PELE

A pele é o principal órgão do corpo humano e também alvo de agressões exógenas, protegendo-o de fatores climáticos nocivos, tais como o frio, o vento, as radiações ultravioletas e a perda de água endógena (“interior do organismo”). É composta por três camadas: epiderme, derme e hipoderme. A epiderme é o tecido superficial da pele e sua camada superior serve como uma barreira efetiva contra um vasto número de substâncias que possam agredi-la (SCHMALTZ; SANTOS; GUTERRES, 2005). A derme é a camada média de sustentação, nela encontramos vasos sanguíneos, colágeno e fibras elásticas que são os anexos cutâneos. Ela é subdividida em duas camadas, a camada papilar superficial (que contém complexos vasculares que são responsáveis pela nutrição da epiderme através de osmose) e a camada reticular profunda (que tem como características suas fibras densamente entrelaçadas). A subcutânea é mais profunda sendo constituída pelo tecido adiposo e pode variar de tamanho (SANTOS; MIYASHIRO; SILVA, 2015).

O suor contém alguns ácidos carboxílicos que apresentam cheiros desagradáveis e é produzido pelas glândulas sudoríparas apócrinas, que por si só, não tem cheiro ruim, este cheiro é produzido apenas quando ocorre o crescimento de bactérias no local (FIORENTINO, 2009). O odor desagradável do suor é a bromidrose e a alteração da cor é a cromidrose. A sudação é extremamente variável por indivíduo, idade, raça, e influenciada por fatores endógenos e exógenos. A sudorese excessiva constitui a hiperidrose que pode ser generalizada ou localizada em algumas regiões (FDA, Guideline, 2004).

Segundo Fredrich et al. (2013), as linhagens *Corynebacterium* spp. e *Staphylococcus* spp. prevalecem na microbiota residente da pele, sendo que os primeiros são os

responsáveis pela liberação da maioria dos compostos relacionados ao odor axilar. Estes incluem compostos de enxofre, derivados de esteroides e ácidos graxos de cadeia curta voláteis, cuja combinação e proporções representam a intensidade do odor axilar humano. O maior impacto no odor axilar deriva de compostos voláteis de enxofre, que também são resultantes da ação dos *Staphylococcus* spp. Tais compostos apresentam um baixo limiar olfativo e representam um mau cheiro típico de cebola e almiscarado.

## 1.1 BACTÉRIAS CAUSADORAS DE MAUS ODORES NAS AXILAS

Na pele seca, como na testa ou nas costas, a colonização da pele pela população das bactérias é estimada em  $10^3$  a  $10^4$  UFC/cm<sup>2</sup> (KAZMIERCZAK; SZEWCZYK, 2004). O máximo de bactérias na superfície da pele, vivem principalmente nos sulcos da superfície e nos folículos pilares (KORTING et al., 1988). Muitas poucas bactérias estão presentes nos pelos axilares (LEYDEN et al., 1981). Em um estudo de pele de 10 indivíduos, Grice et al. (2009) detectou 19 filos, mas apenas 4 predominam: Actinobactérias (52%), Firmicutes (24%); Proteobactérias (17%) e Bacteroides (6%). Três gêneros bacterianos representam 63% de todas as espécies: corynebactérias (23%), propionibactérias (23%) e estafilococos (17%). As variações de gêneros bacterianos interpessoais são maiores do que as variações entre diferentes locais do corpo da mesma pessoa.

Marples e Williamson (1969), em um estudo envolvendo 20 sujeitos, observaram dois tipos distintos da flora axilar uma flora lipofílica predominantemente de gram-positivos em 85% dos casos (bactérias corineformes, incluindo os gêneros *Brevibacter* e *Corynebacterium*), e uma flora dominada por gram-negativos (micrococos e estafilococos) em 15% dos casos.

Kloos e Musselwhite (1975) também demonstraram a prevalência de bactérias 70% de corineformes em 20 sujeitos testados, esses microrganismos corineformes eram pertencentes principalmente ao gênero *Corynebacterium*. Enquanto Aly e Maibach (1977) mostraram que entre as bactérias Corineformes predominantemente da axila, a maioria (78%) não era lipofílica (James et al, 2004; Leyden et al, 1981). Leyden et al (1981) mostraram que a família lipofílica, mesmo que raramente fosse a maioria, estava presente na axila de todos os sujeitos testados, e a espécie mais comum foi *S. epidermidis* (51%), depois *S. saprophyticus* (29%), *S. aureus* esteve presente em 10% dos casos. Em todos os seus estudos, os corineformes presentes eram principalmente do gênero *Corynebacterium*. Grice et al. (2009) também mostraram que em áreas úmidas, como as axilas, o predominam as corinebactérias, coexistindo com estafilococos.

### 1.1.1 *Corynebacterium xerosis* (IAL105)

*Corynebacterium xerosis* é uma bactéria comensal gram-positiva presente na pele, no saco conjuntival e na faringe. Apresenta-se na forma de bastonete pleomórfico e é

também conhecida por aparecer como contaminante em cultura de sangue, sendo a causa de alguns casos de endocardite infecciosa em pacientes imunocomprometidos ou com próteses de válvulas cardíacas (PESSANHA et al., 2003).

Na pele, as bactérias do gênero *Corynebacterium* são bastante frequentes e são encontradas na maioria das pessoas. Crescem em elevadas concentrações de NaCl (acima de 10%), sendo capazes de colonizar áreas da pele com grandes quantidades de sal, como as axilas (WILSON, 2005).

A glicose e uma ampla variedade de aminoácidos estão presentes no suor, pois várias enzimas proteolíticas produzidas pela microbiota cutânea liberam aminoácidos provenientes das proteínas da pele (JAMES et al., 2013). Bactérias pertencentes a esse gênero, além de utilizarem carboidratos e aminoácidos como fontes de carbono e energia, incorporam aminoácidos em proteínas celulares e alguns são essenciais para o crescimento bacteriano. Diferentemente das outras espécies presentes na pele, as linhagens *Corynebacterium* spp. requerem uma série de vitaminas como riboflavina, nicotinamida, tiamina, pantotenato e biotina. Muitas dessas estão presentes no suor e outras são liberadas pela morte de queratinócitos (WILSON, 2005).

### 1.1.2 *Staphylococcus epidermidis* (ATCC12228)

Membros do gênero *Staphylococcus*, são cocos gram-positivos e pertencem à família *Micrococcus*. Estes microrganismos estão amplamente disseminados no meio ambiente. No início, três espécies foram isoladas de amostras clínicas o *Staphylococcus aureus*, o *S. epidermidis* e o *S. saprophyticus*. Na década de 1980, a análise de reações bioquímicas (por exemplo, fermentação de manitol) e componentes celulares (por exemplo, a disponibilidade de coagulase) resultaram na divisão do gênero *Staphylococcus* em subgrupos de espécies patogênicas e não patogênicas (KLOOS; BANNERMAN, 1994). As células de estafilococos são caracterizadas como cocos esféricos (0,5-1,5 µm de diâmetro), gram-positivos, aflagelares e cocos não móveis organizados como células únicas, pares, tétrades e aglomerados. No entanto, eles tendem a formar aglomerados botríoides. Como é o caso de outras bactérias gram-positivas, peptidoglicano e ácido teicóico são os dois principais componentes da parede celular do *Staphylococcus*. Estes são anaeróbios facultativos, com exceção de *S. saccharolyticus*, que é uma bactéria anaeróbia. A temperatura ideal para o crescimento de *Staphylococcus* está entre 18°C e 40°C e maioria dos membros do gênero podem crescer em meios contendo NaCl a 10% (XUEDONG; YUQING, 2015).

A *S. epidermidis* uma bactéria gram-positiva, coloniza principalmente a pele humana e é um problema de saúde devido ao seu envolvimento em infecções adquiridas em hospitais. Estes organismos são frequentemente detectados na saliva e na placa dentária e acredita-se que estejam associados à periodontite, pulpite aguda e crônica, pericoronite, alvéolo seco e estomatite angular. As colônias de *S. epidermidis* são redondas, elevadas,

brilhantes, cinza e possuem bordas completas. O diâmetro é de aproximadamente 2,5 mm. Eles geralmente não produzem uma zona hemolítica, mas as cepas que produzem, podem formar muco que formam colônias pegajosas translúcidas (XUEDONG; YUQING, 2015). Ela é anaeróbio facultativa e as condições de cultura para seu crescimento são semelhantes às de *S. aureus*, porém ela cresce lentamente em meio com NaCl a 10%.

A presença de *Staphylococcus* sp no corpo humano pode variar de local, isso dependerá do sítio analisado. Em locais úmidos como a narina anterior, axilas e áreas perianal e inguinal a população pode chegar a densidades de  $10^3$  a  $10^6$  UFC/cm<sup>2</sup>. Em locais considerados menos úmidos pode-se ter uma população de  $10$  a  $10^3$  UFC/cm<sup>2</sup>. Ainda podem crescer em locais como a cabeça humana (*S. capitis*), no ouvido externo (*S. auriculares*) e na narina anterior (*S. aureus*) (KLOOS; BANNERMAN, 1994).

## 2 | MERCADO COSMÉTICO DE DESODORANTE EM AEROSSOL

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (2005), produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes são preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e/ou corrigir odores corporais e ou protegê-los ou mantê-los em bom estado.

O faturamento do mercado de beleza no Brasil cresce ano a ano, atingindo a marca de 29,62 bilhões de dólares em 2019. Isso faz dele o quarto maior mercado mundial de cosméticos e cuidados pessoais, atrás apenas de Estados Unidos, China e Japão. O Brasil também se destaca em lançamentos, como o terceiro maior em produtos lançados no mercado global, depois de Estados Unidos e China. As criações brasileiras são exportadas para 174 países, segundo o Ministério da Economia e a Secretaria de Comércio Exterior, sendo a Argentina responsável por quase um quarto (24,8%) do valor exportado em 2020. Além disso, o País representa metade do setor de cosméticos na América Latina e deve manter-se nesta posição, ainda por muito tempo. Mesmo em meio à crise causada pelo novo corona vírus, os resultados foram positivos em 2020. Em tempos de pandemia, os resultados de performance da indústria brasileira de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos vem se consolidando com equilíbrio e coerência, de forma mais positiva do que prevíamos no início da crise (NEGOCIOS SC, 2021).

Os desodorantes neutralizam os efeitos do suor que contém, em grande parte, ácidos carboxílicos, produzido pelas glândulas sudoríparas apócrinas. Há algum tempo o desodorante deixou de ser usado unicamente nas axilas, mas também no cabelo, pés, genitálias e algumas variações dos desodorantes axilares passaram a ser usados em roupas, ambientes e com o advento da indústria dos pets, até nos animais. Há também os antitranspirantes que têm o mesmo fim, porém agem de maneira diferente, eles provocam

o fechamento de mais ou menos 50% das glândulas sudoríparas, reduzindo a eliminação de toxinas (COSMETICS ONLINE, 2021).

Dentro do mercado de desodorantes, existem basicamente 5 (cinco) formatos encontrados na categoria: roll on, aerossol, spray, creme, stick. Quando se analisa o desempenho dos diversos tipos de formatos em relação ao mercado de desodorantes, percebe-se que os segmentos que mais crescem são os de roll on e de aerossol.

### 3 I NANO PARTÍCULAS E EFEITO ANTIBACTERIANO

A nanotecnologia fundamenta-se na habilidade de caracterizar, manipular e organizar materiais em escala atômica e molecular. Refere-se a um campo científico multidisciplinar relacionado com estruturas entre 1 e 1000 nanômetros e que se aplica a praticamente todos os setores da pesquisa, da engenharia de materiais e de mercado (KHERZRI; SAEEDI; DIZAJ, 2018). O princípio dessa nova ciência é que os materiais na escala nanométrica podem apresentar propriedades químicas, físico-químicas e comportamentais diferentes daquelas apresentadas em escalas maiores (CAMPOS, et al., 2015). Segundo Ramos e Pasa (2008), o vocábulo nanotecnologia vem de nanômetro, medida que equivale à bilionésima parte do metro, algo quase cem mil vezes menor do que a espessura de um fio de cabelo. A nanotecnologia é um dos principais focos das atividades de pesquisa, desenvolvimento e inovação em todos os países industrializados do mundo. Os investimentos superam a marca de bilhões de reais por ano e seu desenvolvimento tem sido apontado como uma revolução tecnológica.

Ao longo dos anos, a forma tradicional de cosméticos expandiu-se, adaptando-se às mudanças e agora, é reconhecida com base em pesquisas científicas e tecnológicas. Estudos *in vivo* e *in vitro* verificaram a aceitabilidade de produtos cosméticos e a indústria cosmética apresenta novas opções para essa tendência, com inúmeros novos produtos para a pele. Esse desenvolvimento cada vez maior de novos produtos para a pele requer mais qualidade e pesquisas científicas. A eficácia de produtos de cuidados com a pele não depende apenas dos agentes ativos individuais, mas também do veículo empregado (geralmente são carregadores lipídicos) (CAMPOS, et al., 2015). Sabe-se que uma formulação adequada de produtos para a pele deve e quando adaptada ao seu estado, pode apresentar muitos efeitos positivos na hidratação e estabilização da barreira epidérmica. A formulação geral de um cosmético contendo nano ativos, tende a interagir entre as camadas cutâneas e o ingrediente ativo, e pela influência à preparação e à liberação de ingrediente ativo como carga (KHERZRI; SAEEDI; DIZAJ, 2018).

A utilização de nano partículas como princípio ativo nos cosméticos, aumentam significativamente a profundidade de penetração máxima do produto, além de aumentar a taxa de permeação. O foco principal da nanotecnologia voltada para os cosméticos são os produtos aplicados na pele do rosto e corpo com ação em antienvelhecimento e foto

proteção (SANTOS; MIYASHIRO; SILVA. 2015).

Várias substâncias podem ser usadas nas nano partículas, mas nos últimos anos o uso de óleos essenciais em nano partículas para uso em produtos cosméticos está em crescimento devido as propriedades biológicas do composto (NANOVETORES, 2020). Óleos essenciais são misturas complexas de vários tipos de classes de moléculas incluindo terpenóides, compostos fenólicos, aromáticos, cíclicos, acíclicos, acetonídeos e compostos contendo enxofre e nitrogênio. A presença destes compostos e a concentração, varia de acordo com a planta usada. Podem ser extraídos por destilação a vapor, solventes apolares, dióxido de carbono supercrítico e fluorocarbonetos a partir de várias partes das plantas incluindo flores, folhas, frutos, cascas de frutos, sementes, galhos, caules e raízes (NAKATSU et al., 2000).

Apesar de alguns óleos essenciais já serem conhecidos devido às suas propriedades antibacterianas, antifúngicas, antivirais e antioxidante, o recente aumento do interesse no consumo verde ocasionou um aumento do interesse científico sobre eles (NANOVETORES, 2020). Várias plantas medicinais que possuem óleos essenciais, inibem significativamente um amplo espectro de microrganismos, podendo ser usados na fabricação de sabonetes, produtos de higiene, desodorantes, bem como para mascarar ou aromatizar produtos de limpeza e inseticidas (FERNANDES et al., 2013).

A indústria de ingredientes cosméticos vem avançando nos últimos anos, oferecendo blends de óleos essenciais para adição a produtos cosméticos de mercado (NANOVETORES, 2020). As nano partículas cosméticas possuem ação antimicrobiana, antioxidante e de ação regeneradora do sistema epitelial e podem ser compostas por óleos essenciais de Lavanda, Melaleuca, Cravo, Capim-limão, Cedro e Tomilho. Além do aumento da estabilidade, as nano partículas podem ser constituídas de materiais estratégicos, que servem como fonte nutricional para microrganismos, o que resulta num sistema de “arapuca”. Desta forma, o microrganismo, ao degradar a cápsula, entra em contato com o blend antimicrobiano, o qual provoca danos às paredes celulares e membranas de bactérias, comprometendo a integridade celular desses organismos e agindo como um conservante natural, com propriedades antissépticas e sanitizantes (NANOVETORES, 2020).

## REFERÊNCIAS

ALY, R.; MAIBACH, H. **Aerobic microbial flora of intertriginous skin**. Applied Environmental Microbiology, v.33, p. 97-100, 1977.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Definição de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. **RDC N° 211, de 14 de julho de 2005**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 23 ago. 2021.



BRAZIL BEAUTY NEWS. **Líder mundial no segmento de desodorantes, mercado brasileiro abre espaço para os aerossóis compactos.** Disponível em: < <https://www.brazilbeautynews.com/lider-mundial-no-segmento-de-desodorantes-mercado,918>>. Acesso em: 14 de julho de 2021.

CAMPOS, A. G. C.; CUNHA, L. C. R.; PINHEIRO, R.; CARVALHO, A. A. **Os nano cosméticos no envelhecimento facial: revisão de literatura.** Revista da Universidade do Vale do Rio Verde. Três Corações. p. 549-551. 2015.

COSMETICS ONLINE. **Panorama do Mercado de Desodorantes e Antiperspirantes.** Disponível em: < <https://www.cosmeticsonline.com.br/noticias/detalhes-colunas1/329/panorama-do-mercado-de-desodorantes-e-antiperspirantes>>. Acesso em: 14 de julho de 2021.

EGBUOBI, R. C. et al. **Antibacterial activities of different brands of deodorants marketed in Owerri, Imo State, Nigeria.** African Journal of Clinical and Experimental Microbiology, v. 14, 2013.

EUROMONITOR INTERNATIONAL, 2012. Disponível em: <https://www.euromonitor.com/deodorants-in-brazil/report>. Acesso em: 01 jul. 2021.

FERNANDES, C. P. et al. **HLB value, an important parameter for the development of essential oil phytopharmaceuticals.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 23, p. 108-114, 2013.

FIORENTINO, F. A. M. **Desenvolvimento e controle de qualidade de formulação cosmética contendo digluconato de clorexidina.** 2009. Dissertação. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”. Araraquara, SP.

FONTES, I. J. G. **Antioxidantes como substâncias cosmetologicamente activas.** 2013. Dissertação. Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, Portugal.

FREDRICH, E.; BARZANTNY, H.; BRUNE, I.; TAUCH, A. **Daily battle against body odor: towards the activity of the axillary microbiota.** Trends in Microbiology, v. 21, n. 6, p. 305 – 312, 2013.

GRICE, E.A.; KONG, H.H.; CONLAN, S.; DEMING, C.B.; DAVIS, J.; YOUNG, A.C.; BOUFFARD, G.G.; BLAKESLEY, R.W.; MURRAY, P.R.; GREEN, E.D.; TURNER, M.L.; SEGRE, J.A. **Topographical and Temporal Diversity of the Human Skin Microbiome.** Science, v. 5931, p. 1190-1192, 2009.

GUBERT, C. **Prospecção e propagação vegetativa de espécies aromáticas da floresta ombrófila densa na região litorânea do Paraná.** 2011. Dissertação. Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

FDA. **Guidelines for Effectiveness Testing of OTC Antiperspirant.** 2004

JAMES, A. G. et al. **Microbiological and biochemical origins of human axillary odour.** Federation of European Microbiological Societies, v. 83, p. 527-540, 2013.

JAMES, A.G.; CASEY, J.; HYLIANDS, D.; MYCOCK, G. **Fatty acid metabolism by cutaneous bacteria and its role in malodour.** World Journal of Microbiology and Biotechnology, v.20, p. 787-793, 2004.

KAZMIERCZAK, A. K.; SZEWCZYK, E. M. **Bacteria forming a resident flora of the skin as a potential source of opportunistic infections.** Polish Journal of Microbiology, v. 53, 4, p. 249-255, 2004.

KHERZRI, K.; SAEEDI, M.; DIZAJ, M. S. **Application of nanoparticle in percutaneous delivery of active ingredients in cosmetic preparations.** Tradução: Tainara Henz. Irã. p.1499-1505. 2018.

KLASCHKA, U. **Contact allergens for armpits – Allergenic fragrances specified on deodorants.** International Journal of Hygiene and Environmental Health, v. 215, p. 1-8, 2012.

KLOOS, W. E.; BANNERMAN, T. L. **Update on clinical significance of coagulase negative staphylococci.** Clin. Microbiol. Rev., 7(1), p. 117-40, 1994.

KORTING, H.C.; LUKACS, A.; BRAUN-FALCO, O. **Mikrobielle Flora und Geruch der gesunden menschlichen Haut.** Hautarzt. p. 564-568, 1988.

LEYDEN, J.J.; MCGINLEY, K.J.; HÖLZLE, E.; LABOWS, J.; KLIGMAN, A.M. **The microbiology of the human axilla and its relationship to axillary odor.** Journal of Investigative Dermatology, v. 77, p.413-416, 1981.

MARPLES, R.R.; WILLIAMSON, P. **Effects of demethylchlortetracycline on human cutaneous microflora.** Applied Microbiology, v.18, 2, p.228, 234, 1969.

NAKATSU, T.; LUPO JR., A. T.; CHINN JR., J. W.; KANG. R. K. L. **Biological activity of essential oils and their constituents.** Studies in Natural Products Chemistry, v. 21, p. 571 – 631, 2000.

NANOVETORES. **FT NANO BIOPROTECT: literatura técnica.** Revisão 1. 22 de outubro de 2020.

NEGOCIOS SC. **O surpreendente mercado de beleza no Brasil e seu público.** Disponível em: <<https://negociossc.com.br/blog/o-surpreendente-mercado-de-beleza-no-brasil-e-seu-publico>>. Acesso em: 14 de julho de 2021.

PESSANHA, B.; FARBA, A.; LWINC, T.; LLOYDC, B.; VIRMANI, R. **Infectious endocarditis due to Corynebacterium xerosis.** Cardiovascular Pathology, v. 12, p. 98 - 101, 2003.

RAMOS, Betina Giehl Zanetti; PASA, Tânia Beatriz Creczynsk. **O desenvolvimento da nanotecnologia: cenário mundial e nacional de investimentos.** Universidade Federal de Santa Catarina. Trindade-Florianópolis. p. 95-100. 2008.

RENNIE, P.J. et al. **The skin microflora and the formation on human axillary odour.** International Journal of Cosmetic Science, v. 12, p. 197-207, 1990.

SANTOS, Paloma Oliveira dos; MIYASHIRO, Patrícia Yukari; SILVA, Vanessa Alves da. **A nanotecnologia em formulação cosmética.** Revista Eletrônica Beleza in. São Bernardo do Campo.2015.

SCHMALTZ, C.; SANTOS, J. V. DOS; GUTERRES, S. S. **Nanocápsulas como tendência promissora na área cosmética: a imensa potencialidade deste pequeno grande recurso.** Revista Infarma. Universidade Federal do Rio Grande do sul. Porto Alegre. p. 80-83, 2005.

WILSON, M. **Microbial Inhabitants of Humans: Their Ecology and Role in Health and Disease.** 1. ed. Reino Unido: Cambridge University Press, p.457, 2005.

XUEDONG Z., YUQING L. **Supragingival Microbes.** Atlas of Oral Microbiology. Academic Press, v.3, p.41-65, 2015.

**DR. BENEDITO RODRIGUES DA SILVA NETO**

Dr. Neto possui graduação em Ciências Biológicas com especialização na modalidade médica em Análises Clínicas/Microbiologia pela Universidade do Estado de Mato Grosso e Universidade Candido Mendes – RJ, respectivamente. 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. Tem Pós-Doutorado em Genética Molecular com habilitação em Genética Médica e Aconselhamento Genético. O segundo Pós doutoramento foi realizado pelo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Aplicadas à Produtos para a Saúde da UEG (2015), com concentração em Genômica, Proteômica e Bioinformática 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. Possui ampla experiência nas áreas de Genética médica, humana e molecular, atuando principalmente com os seguintes temas: Genética Médica, Engenharia Genética, Micologia Médica e interação Patogeno-Hospedeiro.

O Dr. Neto é 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, além de atuar como Pesquisador consultor da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Goiás - FAPEG.

Na linha da educação e formação de recursos humanos, em 2006 se especializou em Educação no Instituto Araguaia de Pós graduação Pesquisa e Extensão, atuando como Professor Doutor de Habilidades Profissionais: Bioestatística Médica e Metodologia de Pesquisa e Tutoria: Abrangência das Ações de Saúde (SUS e Epidemiologia), Mecanismos de Agressão e Defesa (Patologia, Imunologia, Microbiologia e Parasitologia), Funções Biológicas (Fisiologia Humana), Metabolismo (Bioquímica Médica), Concepção e Formação do Ser Humano (Embriologia Clínica), Introdução ao Estudo da Medicina na Faculdade de Medicina Alfredo Nasser; além das disciplinas de Saúde Coletiva, Biotecnologia, Genética, Biologia Molecular, Micologia e Bacteriologia nas Faculdades Padrão e Araguaia. Como docente junto ao Departamento de Microbiologia, Parasitologia, Imunologia e Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás desenvolveu pesquisas aprovadas junto ao CNPq.

Na Pós-graduação Lato Senso implementou e foi coordenador do curso de Especialização em Medicina Genômica e do curso de Biotecnologia e Inovações em Saúde no Instituto Nacional de Cursos, e atualmente coordena a especialização em Genética Médica, diagnóstico clínico e prescrição assim como a especialização em Medicina Personalizada aplicada à estética, performance esportiva e emagrecimento no Instituto de Ensino em Saúde e Educação. Atualmente o autor tem se dedicado à pesquisa nos campos da Saúde Pública, Medicina Tropical e Tecnologias em Saúde. Na área clínica o doutor tem atuado no campo da Medicina personalizada e aconselhamento genético, desenvolvendo estudos relativos à área com publicações relevantes em periódicos nacionais e internacionais.

**A**

Água potável 45, 46, 50, 51

Anaeróbios 28, 29, 74

Antimicrobiano 70, 72, 77

Antitranspirante 70

Arilazida 53

**B**

Bis-triazóis 52, 53, 54, 68

**C**

Cicloadição 52, 53, 54, 55, 56, 59, 60, 67

Controle de qualidade 20, 21, 78

Coriandrum sativum 7, 14, 15, 16, 17, 18, 19

**D**

Doenças de veiculação hídrica 45, 46

**F**

Fitoterápico 20

Fungos 7, 11, 12, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 80

Fusobacterium necrophorum 28, 29, 30, 36, 38, 39, 42, 43, 44

**H**

Higiene 24, 45, 50, 75, 77

**M**

Multi-locus 7

**N**

Nanotecnologia 70, 76, 79

**O**

óleos essenciais 70, 72, 77

Óleos essenciais 77

**P**

Plantas medicinais 15, 17, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 77

Plântulas 6, 7, 11, 14

**S**

SARS-CoV-2 2

Síntese de triazol 52, 53

Substância antagonista 29

Substância tipo bacteriocina 29

# A MICROBIOLOGIA NA CONTEMPORANEIDADE



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



[contato@arenaeditora.com.br](mailto:contato@arenaeditora.com.br)



[@arenaeditora](https://www.instagram.com/arenaeditora)



[www.facebook.com/arenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/arenaeditora.com.br)

 **Atena**  
Editora

Ano 2023

# A MICROBIOLOGIA NA CONTEMPORANEIDADE

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

 [contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)

 [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)

 [www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)

  
Ano 2023