



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Pesquisa e inovação em diálogo

**JORDANY GOMES DA SILVA
ROGER GOULART MELLO
PATRÍCIA GONÇALVES DE FREITAS
ORGANIZADORES**



2022



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Pesquisa e inovação em diálogo

JORDANY GOMES DA SILVA
ROGER GOULART MELLO
PATRÍCIA GONÇALVES DE FREITAS
ORGANIZADORES



2022



2022 by Editora e-Publicar
Copyright © Editora e-Publicar
Copyright do Texto © 2022 Os autores
Copyright da Edição © 2022 Editora e-Publicar
Direitos para esta edição cedidos à Editora e-Publicar pelos
autores

Editora Chefe

Patrícia Gonçalves de Freitas

Editor

Roger Goulart Mello

Diagramação

Roger Goulart Mello

Projeto gráfico e Edição de Arte

Patrícia Gonçalves de Freitas

Revisão

Os autores

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: PESQUISA E INOVAÇÃO EM DIÁLOGO, VOLUME 1.

Todo o conteúdo dos capítulos, dados, informações e correções são de responsabilidade exclusiva dos autores. O download e compartilhamento da obra são permitidos desde que os créditos sejam devidamente atribuídos aos autores. É vedada a realização de alterações na obra, assim como sua utilização para fins comerciais.

A Editora e-Publicar não se responsabiliza por eventuais mudanças ocorridas nos endereços convencionais ou eletrônicos citados nesta obra.

Conselho Editorial

Alessandra Dale Giacomini Terra – Universidade Federal Fluminense

Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa

Andrelize Schabo Ferreira de Assis – Universidade Federal de Rondônia

Bianca Gabriely Ferreira Silva – Universidade Federal de Pernambuco

Cristiana Barcelos da Silva – Universidade do Estado de Minas Gerais

Cristiane Elisa Ribas Batista – Universidade Federal de Santa Catarina

Daniel Ordane da Costa Vale – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

Danyelle Andrade Mota – Universidade Tiradentes

Dayanne Tomaz Casimiro da Silva - Universidade Federal de Pernambuco

Diogo Luiz Lima Augusto – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro

Elis Regina Barbosa Angelo – Pontifícia Universidade Católica de São Paulo

Ernane Rosa Martins - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás

Ezequiel Martins Ferreira – Universidade Federal de Goiás

Fábio Pereira Cerdera – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Francisco Oricelio da Silva Brindeiro – Universidade Estadual do Ceará

Glaucio Martins da Silva Bandeira – Universidade Federal Fluminense

Helio Fernando Lobo Nogueira da Gama - Universidade Estadual De Santa Cruz

Inaldo Kley do Nascimento Moraes – Universidade CEUMA

João Paulo Hergesel - Pontifícia Universidade Católica de Campinas

Jose Henrique de Lacerda Furtado – Instituto Federal do Rio de Janeiro



Jordany Gomes da Silva – Universidade Federal de Pernambuco
Jucilene Oliveira de Sousa – Universidade Estadual de Campinas
Luana Lima Guimarães – Universidade Federal do Ceará
Luma Mirely de Souza Brandão – Universidade Tiradentes
Mateus Dias Antunes – Universidade de São Paulo
Milson dos Santos Barbosa – Universidade Tiradentes
Naiola Paiva de Miranda - Universidade Federal do Ceará
Rafael Leal da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Rita Rodrigues de Souza - Universidade Estadual Paulista
Rodrigo Lema Del Rio Martins - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Willian Douglas Guilherme - Universidade Federal do Tocantins

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)**

C569 Ciências biológicas [livro eletrônico] : pesquisa e inovação em diálogo: volume 1 / Organizadores Jordany Gomes da Silva, Roger Goulart Mello, Patrícia Gonçalves de Freitas.– Rio de Janeiro, RJ: e-Publicar, 2022.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5364-010-8

1. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. I. Silva, Jordany Gomes da. II. Mello, Roger Goulart. III. Freitas, Patrícia Gonçalves de.

CDD 570.7

Elaborado por Ana Carolina Silva de Souza Jorge – CRB6/2610

Editora e-Publicar

Rio de Janeiro – RJ – Brasil
contato@editorapublicar.com.br
www.editorapublicar.com.br



2022

APRESENTAÇÃO

É com grande satisfação que a Editora e-Publicar vem apresentar a obra intitulada “Ciências Biológicas: Pesquisa e inovação em diálogo, Volume 1”. Neste livro, engajados pesquisadores contribuíram com suas pesquisas. Esta obra é composta por capítulos que abordam múltiplos temas da área.

Desejamos a todos uma excelente leitura!

Editora e-Publicar

SUMÁRIO

| | |
|--|---|
| CAPÍTULO 1 | 10 |
| ATIVIDADE FUNGICIDA DA NANOEMULSÃO ÓLEO-EM-ÁGUA (O/A) INCORPORADA COM ÓLEO ESSENCIAL DE <i>CITRUS LIMETIOIDES</i> TAN..... | 10 |
| | Ana Patrícia Matos Pereira Danielly Fonseca Ari Pereira de Araújo Neto Francilidia Oliveira Vitorino de Assunção Conceição Carlos Eduardo Pereira Conceição Thayson Rodrigues Lopes Nilgicy Maria de Jesus Amorim Gustavo Oliveira Everton |
| CAPÍTULO 2 | 21 |
| CONTEÚDO FENÓLICO TOTAL (CFT) E ATIVIDADE FUNGICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DOS GRÃOS DE <i>PIPER NIGRUM</i> (PIMENTA-DO-REINO) | 21 |
| | João Pedro Mesquita Oliveira Nestor Everton Mendes Filho Ari Pereira de Araújo Neto Mariana Oliveira Arruda Nilgicy Maria de Jesus Amorim Liane Batista da Cruz Soares Victor Elias Mouchrek Filho Gustavo Oliveira Everton |
| CAPÍTULO 3 | 30 |
| ANÁLISE DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO AR EM UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARANÁ | 30 |
| | Clebes Iolanda Leodice Alves Leonice Aparecida de Fátima Alves Pereira Mourad |
| CAPÍTULO 4 | 39 |
| SAÚDE PÚBLICA E ÁGUA: ESTUDO MICROBIOLÓGICO DE AMOSTRA DE ÁGUA DE POÇO DE CAPTAÇÃO | 39 |
| | Clebes Iolanda Leodice Alves Leonice Aparecida de Fátima Alves Pereira Mourad Nathalia Boeira Coghetto Nathalia Roberta Dias dos Santos |

| | |
|--|--|
| CAPÍTULO 5 | 48 |
| A IMPORTÂNCIA DO SANEAMENTO BÁSICO NA PREVENÇÃO DE ENTEROPARASIToses EM COMUNIDADES RIBEIRINHAS | 48 |
| | Ana Flávia Lopes Pereira |
| | Dihele Emanuele Azevedo De Araújo Martins |
| | Ester Pacheco Braga |
| | Luysla da Conceição Carvalho Morais Sousa |
| | Jethânia Glasses Cutrim Furtado Ferreira |
| | Silvio Carvalho Marinho |
| | Marcos Roberto Campos de Macêdo |
| | |
| CAPÍTULO 6 | 55 |
| USO DE MARCADORES MOLECULARES E ALTERAÇÕES NO CICLO CELULAR PARA INVESTIGAR A TOXICIDADE DO EXTRATO AQUOSO FOLIAR DE <i>MYRSINE CORIACEA</i> (SW.) R.BR. EX ROEM. & SCHULT (PRIMULACEAE) | 55 |
| | Thammyres de Assis Alves |
| | Marina Santos Carvalho |
| | Thayllon de Assis Alves |
| | Aldino Neto Venancio |
| | Marcia Flores da Silva Ferreira |
| | Tatiana Tavares Carrijo |
| | Luciano Menini |
| | Milene Miranda Praça-Fontes |
| | |
| CAPÍTULO 7 | 71 |
| AVALIAÇÃO DOS RELATÓRIOS DA QUALIDADE DA ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO NO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO EM 2019 | 71 |
| | Flavia Faria Leite |
| | Roberta Veronese do Amaral |
| | Saulo Pascholetto de Andrade |
| | |
| CAPÍTULO 8 | 90 |
| ATIVIDADE FUNGICIDA DA NANOEMULSÃO DE <i>SYZYGIVM AROMATICUM</i> (L.) MERR. & L.M.PERRY | 90 |
| | Thaylanna Pinto de Lima |
| | Danielly Fonseca |
| | Ari Pereira de Araújo Neto |
| | Mariana Oliveira Arruda |
| | Victor Elias Mouchrek Filho |
| | Thayson Rodrigues Lopes |
| | Silvio Carvalho Marinho |
| | Gustavo Oliveira Everton |

| | |
|--|--|
| CAPÍTULO 9 | 102 |
| CONTEÚDO FENÓLICO TOTAL E ATIVIDADE LARVICIDA DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> LINN FRENTE <i>AEDES AEGYPTI</i> | 102 |
| | Thércia Gabrielle Teixeira Martins Danielly Fonseca Mayra Fernanda Froes Rodrigues Ferreira Roberto Pereira Santos Ari Pereira de Araújo Neto Liane Batista da Cruz Soares Victor Elias Mouchrek Filho Gustavo Oliveira Everton |
| CAPÍTULO 10 | 112 |
| INTERAÇÃO PLANTA-FORMIGAS: EFEITOS SOBRE O SUCESSO VEGETATIVO E REPRODUTIVO DE <i>Turnera subulata</i> Sm. (TURNERACEAE) | 112 |
| DOI: 10.47402/ed.ep.c2022107510108 | Kamila Ermina Felix da Silva Veralucia Santos Barbosa |
| CAPÍTULO 11 | 120 |
| ANTIBIÓTICOS X RESISTÊNCIA BACTERIANA: UMA ANTIGA GUERRA E NOVOS DESAFIOS..... | 120 |
| | Carlos Wilson Silvestre Georgea Isabelly de França Heloísa Francelino da Silva Giani Maria Cavalcante |



CAPÍTULO 1

ATIVIDADE FUNGICIDA DA NANOEMULSÃO ÓLEO-EM-ÁGUA (O/A) INCORPORADA COM ÓLEO ESSENCIAL DE *CITRUS LIMETTIODES* TAN

Ana Patrícia Matos Pereira
Danielly Fonseca

Ari Pereira de Araújo Neto

Francilidia Oliveira Vitorino de Assunção Conceição

Carlos Eduardo Pereira Conceição

Thayson Rodrigues Lopes

Nilgicy Maria de Jesus Amorim

Gustavo Oliveira Everton

RESUMO

Os óleos essenciais são uma alternativa viável, pois possuem propriedades biológicas como ação antifúngica, antibacteriana, larvicida, ação analgésica e anti-inflamatória, além de atividade antitumoral. Por conseguinte, destaca-se a necessidade de novas táticas para o tratamento dessas infecções, sendo as nanoemulsões sistemas de emulsão de óleo/água (O/A) ou água/óleo (A/O) com tamanho de partículas em escala nanométrica. Quanto menor a partícula, melhor será sua estabilidade e distribuição em certa área, constituindo um sistema mais eficiente de transporte de fármacos ativos, aumentando os potenciais químicos, físicos e biológicos do meio em que forem aplicadas. Dessa forma, este estudo tem como objetivo quantificar o conteúdo fenólico e avaliar o potencial antimicrobiano de nanoemulsão estável através de método de baixa energia. O material vegetal foi obtido no município de São Luís-MA. O OE foi obtido através da técnica de hidrodestilação, teor de fenóis foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu e para os flavonoides utilizou-se a complexação com $AlCl_3$. A atividade antifúngica pelo Método de Diluição em Caldo frente a *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* e *Colletotrichum gloeosporioides*. Através dos resultados obtidos foi possível determinar que o teor de fenólicos totais quantificado foi de 75,124 mg EAT g^{-1} e flavonoides de 99,22 mg EQT g^{-1} . O OE e nanoemulsão apresentaram atividade fungicida frente a todos os microrganismos testados. A Concentração Inibitória Mínima e Fungicida Mínima para ação da nanoemulsão foi quantificada em 100 $\mu g mL^{-1}$ frente a *A. niger* e 200 $\mu g mL^{-1}$ para *C. gloeosporioides* e *P. chrysogenum*, apresentando potencial fungicida frente a todos os microrganismos testado. Os resultados obtidos comprovam o potencial necessário para a aplicação do OE e nanoemulsão das cascas de *C. limettioides* Tan como antimicrobiano, incentivando o potencial de aplicação do OE.

PALAVRAS-CHAVE: *Citrus limettioides* Tan.; Fungicida; Nanoemulsão; Óleo essencial.

INTRODUÇÃO

A aplicação de espécies vegetais para aliviar e curar sintomas de doenças vêm desde o início das civilizações e até hoje seja as comunidades rurais ou urbanas, cultivam plantas medicinais (ROSSATO&CHAVES, 2012). Grande parte dos fármacos utilizados pela medicina



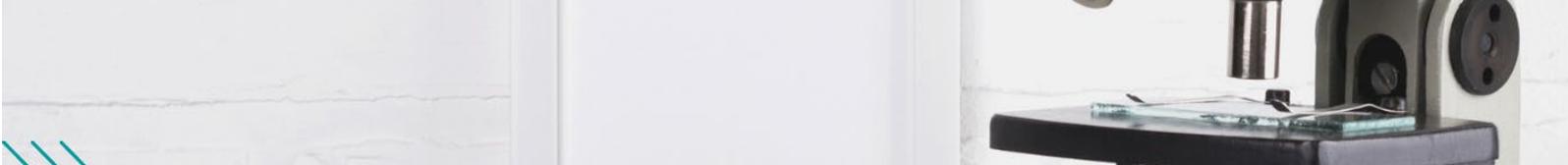
tradicional provêm de recursos naturais, aplicados de forma inteira ou fracionada (DE ALMEIDA et al., 2015).

Dessa forma, os óleos essenciais configuram uma alternativa viável em diversas pesquisas relacionadas à substâncias vegetais. Eles possuem propriedades biológicas como ação antifúngica, antibacteriana, larvicida, ação analgésica e anti-inflamatória, além de atividade antitumoral (MACHADO & JUNIOR, 2011). Diante da perspectiva do uso de óleos essenciais na conservação, aumento da validade alimentícia e diminuição da utilização de antioxidantes sintéticos, inúmeras pesquisas têm se destacado por demonstrar o potencial biológico desses compostos contra microrganismos patogênicos, transformando esses metabólicos em uma alternativa promissora de alta viabilidade econômica e ecológica (ANDRADE et al., 2012).

No Brasil são frequentes infecções causadas por agentes microbianos oportunistas. Os fungos constituem esses microrganismos responsáveis por muitos processos infecciosos (SILVA, 2012). Estão presentes no meio ambiente (ar, matéria orgânica em decomposição, solo) e podem ainda ser encontrados em ambientes hospitalares, aparelhos de refrigeração de ar e móveis (NAKAMURA et al., 2013).

No que se refere ao tratamento dos casos, a terapêutica convencional disponível no comércio possui em sua maioria efeitos adversos indesejáveis, assim como a resistência de algumas cepas a esses antimicrobianos. Em sua maioria, os antifúngicos são administrados de forma inadequada pelos indivíduos infectados, visto que infecções fúngicas requerem um tratamento contínuo e regular para evitar o reaparecimento das manifestações clínicas (MOREIRA et., 2017). Dessa forma, destaca-se a necessidade de novas táticas para o tratamento dessas infecções, como a busca do desenvolvimento de potentes fármacos a partir de terapias fitoterápicas mais eficazes.

As nanoemulsões estão entre os métodos recomendados para formulação de novos fármacos, pois são sistemas de emulsão de óleo/água (O/A) ou água/óleo (A/O) com tamanho de partículas bem menores que as partículas presentes no sistema das emulsões, ou seja, apresentam-se em escala nanométrica (PIRES, 2016). O melhor potencial fungicida encontrado na nanoemulsão, pode ser justificado pelo tamanho das suas partículas, pois quanto menor, melhor será sua estabilidade e distribuição em certa área, constituindo um sistema mais eficiente de transporte de fármacos ativos, aumentando os potenciais químicos, físicos e biológicos do meio em que forem aplicada (YUKUYAMA et al., 2015).



Dentre as diversas espécies vegetais produtoras de óleos essenciais (OE's), destaca-se a *Citrus limettioides* Tan (laranja lima), uma espécie pertencente à família Rutaceae que possui cerca de 150 gêneros e 1600 espécies presentes em zonas tropicais, subtropicais e temperadas do mundo todo. *Citrus* é um gênero que compreende cerca de 70 espécies de subarbustos e arbustos encontrados em muitas regiões do Brasil, em sua maioria de importância econômica (CAMPELO et al., 2013).

Espécies do gênero *Citrus* são conhecidas pela grande quantidade de óleos essenciais, frequentemente utilizados como aromatizantes em diversos produtos, pelas indústrias alimentícias, cosméticas e de higiene. Seus óleos essenciais já foram relatados para o tratamento de enfermidades, devido às suas propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antibacterianas e antiparasitárias (STEVAM et al., 2016). No entanto, estudos relacionados a bioprospecção em atividades biológicas de *C. limettioides* Tan. ainda são pouco conhecidas. Dessa forma, este estudo tem como objetivo quantificar o conteúdo fenólico e avaliar o potencial antimicrobiano de nanoemulsão óleo-em-água incorporada com óleo essencial das cascas de *Citrus limettioides* Tan. estável através de método de baixa energia

METODOLOGIA

Coleta e preparo do material vegetal

A coleta de material vegetal utilizado nesta pesquisa foi realizada em outubro de 2020. As cascas de *Citrus limettioides* Tan (Produtos Naturais Muniz, LTDA) foram adquiridas no município de São Luís, Brasil. O material foi encaminhado ao Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) para triagem, determinação do teor de água e secagem em estufa digital de ar convectivo FANEM 520. No laboratório, o material vegetal foi analisado e foram selecionadas quanto aos aspectos visuais as cascas não danificadas. As cascas foram cortadas manualmente, havendo cautela na padronização dos cortes. Os cortes foram realizados de maneira radial em partes de no máximo 4 cm de comprimento e 1 cm de largura.

Obtenção do óleo essencial

Para a extração do óleo essencial, a técnica de hidrodestilação foi usada com um extrator de vidro Clevenger acoplado a um balão de fundo redondo embalado em um cobertor elétrico como fonte geradora de calor. Foram utilizados 100g de cada material vegetal, adicionando água destilada (1:10). A hidrodestilação foi realizada a 100°C durante 3 h e o óleo essencial extraído foi coletado. O óleo essencial foi seco por percolação com sulfato de sódio anidro de



sódio anidro (Na₂SO₄). Essas operações foram realizadas em triplicados e as amostras armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração de 4°C. Posteriormente submetidas às análises.

Fenólicos totais

O teor de fenóis para o óleo essencial foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (LUGASI et al., 1998; OLIVEIRA et al., 2009) Utilizou-se 5 mg do óleo essencial diluído em 1 mL de etanol. A esta solução foi adicionado 7 mL de água destilada, 800 µL do reagente Folin-Ciocalteu a 10% e 2,0 mL de carbonato de sódio a 7,5%. A solução formada foi levada ao banho-maria a 50 °C por 5 min, retirada e deixada para esfriar; e, então, foi realizada a leitura em espectrofotômetro manual, em comprimento de 760 nm. Como referência, foi obtida uma curva analítica com o ácido tânico, que forneceu a equação da reta para a conversão da absorbância medida em miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato (mg EAT.g⁻¹).

Flavonoides totais

Para estimativa do teor de flavonoides totais utilizou-se a complexação com AlCl₃. O teor de flavonoides totais foi estimado espectrofotometricamente pela reação com AlCl₃, utilizando quercetina como padrão (DOWLD, 1959; WOISKY&SALATINO, 1998; FREDERICE et al., 2010). O óleo essencial foi diluído em etanol para obter soluções com concentração de 10 mg mL⁻¹. A uma alíquota de 0,2 mL desta solução foram adicionados 4,4 mL de EtOH e 0,4 mL de solução aquosa de AlCl₃ a 2%. Após 30 minutos, as absorbâncias das amostras foram medidas a 425 nm. Como referência, foi obtida uma curva analítica com a quercetina, que forneceu a equação da reta para a conversão da absorbância medida em miligramas equivalentes de quercetina por grama de extrato (mgEQ.g⁻¹).

Preparo da nanoemulsão

O preparo das nanoemulsões foi realizado de acordo com as metodologias adaptadas descritas por De Lima et al. (2020), Sugumar et al. (2014), Kubitschek et al. (2014) e Rodrigues et al. (2014). A nanoemulsão óleo-em-água foi formulada o óleo essencial obtido, surfactante não iônico (Tween 20) e água. O experimento foi realizado em triplicado.

Padronização do inóculo microbiano

Foram utilizadas três cepas de fungos: *Aspergillus niger* (ATCC 6275), *Colletotrichum gloeosporioides* (ATCC 96723), *Penicillium chrysogenum* (ATCC 10106). Estas foram



previamente identificadas e confirmadas pelas provas bioquímicas. Culturas puras mantidas em ágar TSA foram repicadas para caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) e incubadas a 35 °C até atingirem fase exponencial de crescimento (4-6 h). Após esse período, as culturas tiveram sua densidade celular ajustada em solução salina 0,85% estéril, de modo a se obter uma turbidez comparável à da solução padrão de McFarland 0,5, o que resulta em uma suspensão microbiana contendo aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ de acordo com as normas do Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais (CLSI, 2015).

Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração mínima (CFM)

Este ensaio avaliou a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) do óleo essencial. O ensaio de CIM foi realizado empregando-se a técnica de diluição em caldo, proposta pela Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015). Primeiramente foram preparadas soluções do óleo essencial utilizando-se Tween 20 a 2%, sendo preparadas diluições seriadas em caldo BHI para o ensaio fúngico, resultando nas concentrações de 10 a 1000 µg mL⁻¹. As nanoemulsões foram diluídas diretamente no meio de cultura.

A cada concentração foram adicionadas suspensões fúngicas contendo $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ das cepas. Os tubos foram incubados a 25°C por 24-48h para as cepas fúngicas. Foram realizados os controles de esterilidade e crescimento para o ensaio realizado. Após o período de incubação, foi verificada CIM do óleo essencial, sendo definida como a menor concentração que visivelmente inibiu o crescimento fúngico (ausência de turvação visível). Ensaio realizado em triplicata.

Para o ensaio de CFM das diluições provenientes do caldo BHI que visivelmente inibiram o crescimento fúngico. As alíquotas foram inoculadas em Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) com posterior incubação a 35°C por 24h. A CFM foi determinada como a menor concentração que visualmente no ensaio de CIM apresentou inibição de crescimento e que nas culturas para os ensaios fungicidas também não apresentaram crescimento visível.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quantificação de fenólicos e flavonoides totais

O resultado do teor total de fenólicos e flavonoides do óleo essencial de *C. limettioides* Tan. estão apresentados na Tabela 1. O conteúdo fenólico total (CPT) foi expresso como equivalentes de ácido tânico (mg EAT g⁻¹ de material vegetal) a equação da reta obtida foi $y = 0,0586x + 0,06000$ ($R^2 = 0,9998$), onde y representa a absorvância e x a concentração

equivalente de ácido tânico. Para os flavonoides foi utilizado o padrão de quercetina (mg EQT/g de material vegetal), a equação obtida foi $y=0,0033x + 0,0006$ ($R^2=0,9845$), onde y representa a absorvância e x a concentração equivalente de quercetina.

Tabela 1: Quantificação de fenólicos e flavonoides totais em óleo essencial de *Citrus limettioides* Tan.

| Fenólicos | Óleo essencial | Flavonoides | Óleo essencial |
|--------------------------------------|-------------------------|-------------------------------------|----------------------|
| Total (mg EAT g⁻¹) | 75,124 | Total (mg EQ g⁻¹) | 99,22 |
| Linear | $y = 0,0586x + 0,06000$ | Linear | $y=0,0033x + 0,0006$ |
| (R²) | 0,9998 | (R²) | 0,9845 |

Fonte: Autor (2021)

O óleo essencial das cascas de *Citrus limettioides* Tan. utilizado no presente estudo, apresentado na Tabela 1, mostrou uma quantidade menor de conteúdo fenólico e flavonoide, quando comparado a outros estudos. A quantidade de fenólicos e flavonoides encontradas neste estudo para a *Citrus limettioides* Tan. (laranja lima), pode ser justificada pela presença do componente químico majoritário limoneno, um monoterpene de cadeia aberta, descrito em outros estudos para o gênero *Citrus* (DIAS et al., 2020; RIBEIRO et al., 2020). As características físicas, químicas e biológicas do limoneno estão diretamente relacionadas as propriedades dos óleos essenciais das frutas cítricas (GONZÁLEZ-MAS et al., 2019). O conteúdo fenólico total e flavonoide para o óleo essencial para a espécie em estudo encontra-se pouco divulgado na literatura e enfatiza a importância de divulgação deste estudo.

Resultados superiores foi descrito por Silva (2017) ao avaliar os teores de fenólicos de extratos de várias partes de *Citrus limon* (L.). com variações de 116,76 mg e 420,20 mg de EAT.g⁻¹. O conteúdo de fenóis totais também foram maiores em um estudo de Weizemann (2016), com variação de 121,59 a 144,12 mg EAG/g para os extratos das polpas de *Citrus reticulata* Blanco e de 166,62 a 173,70 mg EAG/g para os extratos das cascas. Nesse mesmo estudo, foi reportado quantidade de flavonoides que variou de 10,01 a 23,7 mg ER/g e de 69,9 a 118,59 mg ER/g para os extratos das polpas e cascas, respectivamente, demonstrando conteúdo de flavonoides inferiores para os extratos das polpas de *C. reticulata* Blanco, quando comparado ao deste estudo.

Araújo et al. (2015), verificaram teor de fenólicos inferiores ao deste estudo, com 21,79 mg EAG/g para o extrato bruto de *Citrus sinensis*. No entanto Lopes et al. (2018), não obteve conteúdo de fenólicos totais ao avaliar a atividade antioxidante do óleo essencial das folhas de limão taiti (*Citrus Latifolia* Tanaka.).

Resultados maiores foram reportados por Souza (2015) ao determinar o teor de flavonoides (254,55 mg RE g⁻¹) de óleo essencial de acessos de *L. origanoides* mantidos em

banco de germoplasma *in vivo*. Meira et al. (2019) também apontaram valor superior de até ± 250 mg RE g⁻¹ de flavonoide na matéria seca de alecrim-pimenta.

ATIVIDADE FUNGICIDA

A Tabela 2 apresenta a ação antifúngica do óleo essencial e nanoemulsão de *C. limettioides* Tan. frente os fungos testados. Observou-se a ação do óleo essencial e nanoemulsão frente a todas as espécies testadas.

Tabela 2: Atividade antifúngica do óleo essencial e nanoemulsão de *Citrus limettioides* Tan.

| Espécie | OE | | NOE | |
|---------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$) | CFM ($\mu\text{g mL}^{-1}$) | CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$) | CFM ($\mu\text{g mL}^{-1}$) |
| <i>A. niger</i> | 250 | 200 | 100 | 300 |
| <i>C. gloeosporioides</i> | 300 | 500 | 250 | 200 |
| <i>P. chrysogenum</i> | 100 | 300 | 50 | 200 |

Nota: OE, óleo essencial; NOE, nanoemulsão formulado com o óleo essencial; CIM, Concentração Inibitória Mínima; CFM, Concentração Fungicida Mínima.

Fonte: Autor (2021)

Conforme a Tabela 2, o teste de Concentração Inibitória Mínima apresentou o resultado de inibição ao crescimento microbiano de *A. niger* a partir de $250 \mu\text{g mL}^{-1}$, de *C. gloeosporioides* a partir de $300 \mu\text{g mL}^{-1}$ e de *P. chrysogenum* a partir de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ para o óleo essencial. Para a nanoemulsão a CIM obtida foi de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $50 \mu\text{g mL}^{-1}$, para *A. niger*, *C. gloeosporioides* e *P. chrysogenum*, respectivamente, conforme a Tabela 2. Dessa forma, segundo a classificação de Aligianis et al. (2001) para a atividade antimicrobiana de produtos vegetais, relacionada aos resultados da CIM, classificou o OE e nanoemulsão da laranja lima com potencial de forte inibição para todos os fungos testados.

Em estudo realizado por Andrade et al. (2015) sobre a atividade antifúngica de *Citrus aurantifolia*, os autores relataram inibição a partir da concentração de $800 \mu\text{g mL}^{-1}$ para *A. niger* e a partir de $1200 \mu\text{g mL}^{-1}$ para *Penicillium* sp., resultados superiores aos encontrados neste estudo, enfatizando a importância da espécie em estudo. De Menezes Filho & Castro (2019), ao utilizar outra metodologia para avaliar a atividade antifúngica do OE do fruto maduro da laranja-kinkan, obtiveram resultado de alta eficiência no percentual de inibição contra *C. gloeosporioides*. Já em estudo de Solís Silva et al. (2018), observaram potencial promissor da nanoemulsão de *Citrus sinensis* frente a *Colletotrichum gloeosporioides*, comprovando os resultados deste estudo.



O ensaio para Concentração Fungicida Mínima apresentado mostrou melhores resultados para o OE frente a *A. niger*, observando-se ação fungicida a partir de 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$ já a nanoemulsão somente se pode notar ação a partir de 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ frente a *C. gloeosporioides* e *P. chrysogenum*. Em estudo recente de Hendges et al. (2019), constataram que o OE de bergamota foi eficaz contra o fungo *Alternaria solani*, que acomete tomateiros. No entanto Lopes et al. (2013) não observaram nenhuma ação antifúngica do OE de *Citrus limettioides* Tanaka frente a espécies de *Candida* e *Cryptococcus*. Não foram encontrados na literatura outros resultados para os fungos testados neste estudo.

A ação antifúngica do OE das cascas de *Citrus limettioides* Tan., pode estar relacionada ao componente químico majoritário identificado em altas concentrações em outras espécies de *Citrus*, cuja atividade antifúngica foi amplamente descrita pela literatura. Segundo estudo de Ma et al. (2015), já foram descritas atividade promissora em sua forma mais pura, frente a outros fungos patogênicos, como *Aspergillus niger*, *Phytophthora digitatum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* e *Fusarium verticillioides*. Zohra et al.(2015) em seus estudos sobre o OE de quatro espécies de *Citrus*, apontaram potencial biológico contra *Fusarium oxysporum*, *Penicillium* sp., *Alternaria* sp. e *Fusarium* sp., destacando também altas concentrações do monoterpeno limoneno. Sendo assim, destaca-se a importância dos resultados deste estudo, visto que, este se apresenta de forma inédita para a espécie em estudo.

As frutas do gênero *Citrus* são de grande interesse para a indústria na produção de sucos, destacando o Brasil como o maior produtor de laranjas. No entanto, os subprodutos desses frutos, como as cascas e bagaços são comumente descartados, gerando milhões de toneladas de lixo urbano produzidos por estes e outros produtos agrícolas (FRANCO, 2016; STORCK et al., 2013). Assim, levando em consideração esses fatores, ressalta-se novamente a relevância do uso das cascas da *Citrus limettioides* Tan. (laranja lima), como aproveitamento para estudo e produção de novos fármacos bioativos

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o presente trabalho, observou-se que apresentou teores de fenólicos e flavonoides consideráveis e atividade antifúngica frente a todos os microrganismos testados, incentivando o potencial de aplicação do óleo essencial de *Citrus limettioides* Tan no controle e combate de fungos patogênicos



REFERÊNCIAS

- ALIGIANNIS, N. et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 49, n. 9, p. 4168-4170, 2001.
- ANDRADE, M. A. et al. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. *Revista Ciência Agronômica*, v. 43, n. 2, p. 399-408, 2012.
- ANDRADE, F. J. E. T. et al. Atividade antifúngica de óleo essencial de limão (*Citrus aurantifolia*) frente a fungos filamentosos isolados de pães. **Hig. alim.**, p. 206-210, 2015.
- ARAUJO, E. I. M. et al. Caracterização da atividade antioxidante, teor de fenóis totais e atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti* de *Citrus sinensis* L. (Laranja). **Blucher Chemistry Proceedings**, v. 3, n. 1, p. 276-282, 2015.
- CAMPELO, L. M. L. et al. Constituintes químicos e estudos toxicológicos do óleo essencial extraído das folhas de *Citrus limon* Burn (Rutaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 708-716, 2013.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved Standard Eleventh Edition; 32 p, 2015.
- DE ALMEIDA NETO, J. R.; DE BARROS, R. F. M.; SILVA, P. R. R. Uso de plantas medicinais em comunidades rurais da Serra do Passa-Tempo, estado do Piauí, Nordeste do Brasil. **Revista brasileira de biociências**, v. 13, n. 3, 2015
- DE LIMA, T. C. P. et al. Desenvolvimento de nanogel de *Copaifera reticulata* sobre a lesão muscular em ratos usando fonoforese. **Saúde e Pesquisa**, v. 13, n. 1, 2020.
- DE MENEZES FILHO, A. C. P.; DE SOUZA CASTRO, C. F. Caracterização química e atividade antifúngica dos óleos essenciais de laranja-kinkan (*Fortunella margarita* (LOUR.) SWINGLE). **Folia Amazônica**, v. 28, n. 2, p. 185-198, 2019.
- DIAS, A. L. B. et al. Chemical composition and in vitro inhibitory effects of essential oils from fruit peel of three *Citrus* species and limonene on mycelial growth of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, n. 2, p. 460-464, 2020.
- DOWLD, L.E. Spectrophotometric determination of quercetin. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 7, p.1184-1187, 1959.
- FRANCO, A. SILVA M. O suco de laranja brasileiro no mercado global. **Análise Conjuntural**, v. 38, n. 11/12, p. 11-12, 2016.
- FREDERICE, R.; FERREIRA, A.P.G.; GEHLEN, M.H. Molecular Fluorescence in Silica Particles Doped with Quercetin- Al^{3+} Complexes. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 7, p. 1213-1217, 2010.
- GONZÁLEZ-MAS, M. C. et al. Volatile compounds in citrus essential oils: A comprehensive review. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 10, n. February, p. 1–18, 2019.



HENDGES, C. et al. Atividade antifúngica, controle da pinta preta e ativação de mecanismos de defesa em tomateiro por óleos essenciais. 2019.

KUBITSCHKE-KM, A. R. J.; ZERO, J. M. Development of jojoba oil (*Simmondsia chinensis* (Link) CK Schneid.) based nanoemulsions. **Lat. Am. J. Pharm**, v. 33, n. 3, p. 459-63, 2014.

LI, Z. H. et al. Development of finger citron (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis*) essential oil loaded nanoemulsion and its antimicrobial activity. **Food Control**, v. 94, p. 317-323, 2018.

LOPES, K. M. M. et al. Variação circadiana da composição química e avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana do óleo essencial das folhas de limão Taiti (*Citrus Latifolia* Tanaka.). 2018.

LOPES, L. T. A. et al. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial e anatomia foliar e caulinar de *Citrus limettioides* Tanaka (Rutaceae). 2013.

LOU, Z. et al. The antioxidant, antibacterial, antibiofilm activity of essential oil from *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* and its nanoemulsion. **LWT**, v. 80, p. 371-377, 2017.

LUGASI, A. et al. Antioxidant and free radical scavenging properties of squeezed juice from blackradish (*Raphanus sativus* L. var. *niger*) root. **Phytotherapy Research**, v.12, n. 7, p. 502-506, 1998.

MA, B. et al. Interferência e mecanismo do óleo essencial de semente de endro e contribuição da carvona e limoneno na prevenção da podridão por *Sclerotinia* em colza. **PloS one**, v. 10, n. 7, pág. e0131733, 2015.

MACHADO, B. F. M. T.; JUNIOR, A. F. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cad. acad., Tubarão**, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MEIRA, M.; MARTINS, E. R.; ALVARENGA, I. C. A. Prolina livre e flavonoides totais de *Lippia origanoides* submetidos a níveis de saturação por base e estresse hídrico. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias (Agrária)**, v. 14, n. 2, p. 5652, 2019.

MOREIRA, L. S. et al. Estudo da resistência aos antifúngicos de leveduras isoladas de candidúrias de um hospital de médio porte. *Revista Univap*, v. 23, n. 43, p. 44-52, 2017.

NAKAMURA, H. M.; CALDEIRA, S. M.; AVILA, M. A. G. Incidência de infecções fúngicas em pacientes cirúrgicos: uma abordagem retrospectiva. **Rev. SOBECC**, São Paulo. V.18,n. 3, p. 49-58,2013.

NIRMAL, N. P. et al. Formulation, characterisation and antibacterial activity of lemon myrtle and anise myrtle essential oil in water nanoemulsion. **Food chemistry**, v. 254, p. 1-7, 2018.

OLIVEIRA, A.C. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

PIRES, V. G. A. Incorporação de nanoemulsões de óleos essenciais de melaleuca, copaíba e limão em filmes de alginato de sódio para utilização como curativo. 2016.

RIBEIRO, N. C. et al. Insecticidal potential of citrus and mango essential oils and selected constituents on silverleaf whitefly1. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 1, p. 90-99, 2020.



RODRIGUES, E. C. R et al. Development of a larvicidal nanoemulsion with Copaiba (*Copaifera duckei*) oleoresin. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 6, p. 699-705, 2014.

ROSSATO, A.E.; CHAVES, T.R.C. Fitoterapia Racional: Aspectos taxonômicos, agroecológicos, etnobotânicos e terapêuticos, dinâmica utilizada no levantamento das informações que constam neste livro. ROSSATO, AE; PIERINI, M. de M.; AMARAL, PA, p. 16-37, 2012.

SILVA, M. G. S. Atividade antimicrobiana, antioxidante e teor de compostos fenólicos totais de diferentes partes do limão siciliano (*Citrus limon* (L) Burn). 2017.

SILVA, K. B. et al. Tolerância à dessecação de sementes de *Cinnamomum zeylanicum* Ness. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, p. 587-593, 2012.

SOLÍS-SILVA, A. et al. Evaluación de la actividad antifúngica y antioxidante de una nanoemulsión W/O de *Opuntia oligacantha* y aceite esencial de *Citrus X sinensis*. **Investigación y Desarrollo en Ciencia Y Tecnología de Alimentos**, v. 3, p. 182-187, 2018.

SOUZA, L. M. Flavonoides totais, atividade antioxidante e variação sazonal da composição química do óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunth.). 2015. 1v. 116f. 2017. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) –UFMG, Montes Claros, Minas Gerais.

SUGUMAR, S. et al. Nanoemulsion of eucalyptus oil and its larvicidal activity against *Culex quinquefasciatus*. **Bulletin of entomological research**, v. 104, n. 3, p. 393-402, 2014.

STEVAM, E.B.B. et al. Composição química e atividades biológicas dos essenciais das folhas frescas de *Citrus limonia* Osbeck e *Citrus latifolia* Tanaka (Rutaceae). **Rev Virtual Quim** 8: 1842-1854, 2016.

STORCK, C. R. et al. Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais: composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações. **Ciência Rural**, v. 43, n. 3, p. 537-543, 2013.

WEIZEMANN, J. Determinação do teor de compostos fenólicos e avaliação do potencial antitumoral de *citrus reticulata blanco*. 2016.

WOISKI, R.G.; SLATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

YUKUYAMA, M. N. et al. Nanoemulsion: process selection and application in cosmetics—a review. **International journal of cosmetic science**, v. 38, n. 1, p. 13-24, 2016.

ZOHRA, H. F. et al. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of Algerian citrus. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 12, p. 1048-1055, 2015.



CAPÍTULO 2

CONTEÚDO FENÓLICO TOTAL (CFT) E ATIVIDADE FUNGICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DOS GRÃOS DE *PIPER NIGRUM* (PIMENTA-DO-REINO)

João Pedro Mesquita Oliveira

Nestor Everton Mendes Filho

Ari Pereira de Araújo Neto

Mariana Oliveira Arruda

Nilgicy Maria de Jesus Amorim

Liane Batista da Cruz Soares

Victor Elias Mouchrek Filho

Gustavo Oliveira Everton

RESUMO

O uso de óleos essenciais (OEs) de plantas têm se tornado comum e se transformado em uma importante ferramenta contra arboviroses, esses bioprodutos também apresentam compostos aromáticos voláteis como terpenos e seus derivados (carvacrol, timol, eugenol, terpineno, linalol e carvona), que são os principais responsáveis por sua atividade antimicrobiana devido sua capacidade de interagir em diferentes moléculas alvo e nas funções das células bacterianas como mecanismos antibacterianos. Dessa forma, este estudo teve por objetivo avaliar o conteúdo fenólico total e a atividade antimicrobiana do óleo essencial dos grãos de *Piper nigrum*. Os grãos de *P. nigrum* foram adquiridos no município de São Luís-MA (Produtos Naturais Muniz, LTDA). Para obtenção do OE empregou-se o processo de hidrodestilação (100 °C/3h). Para quantificar o teor de fenólicos totais foi utilizado o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu com curva padrão expressa em ácido tânico. Para determinar a atividade antifúngica, fez-se o uso da técnica de Diluição em Caldo para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Semeadura em Ágar para Concentração Fungicida Mínima (CFM). O conteúdo fenólico total foi quantificado em 140,0 mg EAT g⁻¹, ressaltando um esperado potencial antioxidante para o OE. A CIM/CFM para a ação do OE foi quantificada em 50/100; 100/250; e 100/250 µg mL⁻¹ frente a *A. niger*, *C. gloeosporioides* e *P. chrysogenum*. Conforme os resultados obtidos, conclui-se que o OE de *P. nigrum* foi eficiente no controle e combate frente as cepas fúngicas testadas.

PALAVRAS-CHAVE: Atividade antifúngica; Fungos; Hidrodestilação

INTRODUÇÃO

No decorrer dos anos, o emprego de plantas medicinais e de fitoterápicos são uma prática mundialmente disseminada, sendo encorajada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), especialmente em países em desenvolvimento. No Brasil, em 2006, o Ministério da Saúde lançou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), oferecendo aos usuários do Sistema Único de Saúde (SUS), principalmente no âmbito da Atenção Primária à Saúde (APS) (BRASIL, 2006).



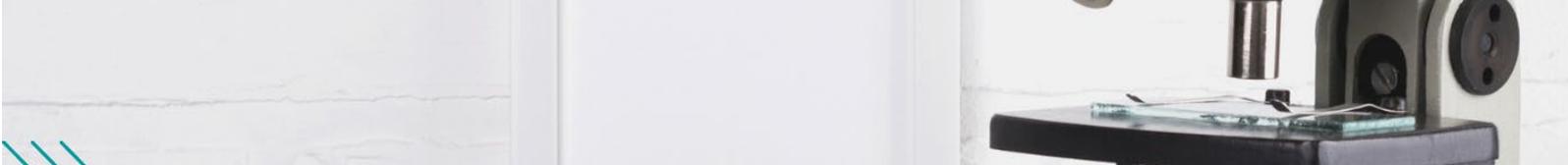
Ressalta-se, contudo, que os usuários que utilizam esta terapia precisam de uma prescrição adequada e além de informações sobre possíveis interações medicamentosas, pois o conceito de que o uso de planta medicinal não faz mal, por ser natural e aliado ao pensamento de que os médicos não entendem de plantas medicinais, leva muitas vezes o paciente a não comentar que está fazendo uso deste recurso (LEITE&SCHOR, 2005; TOMAZZONI, 2004).

Desta forma, a utilização de produtos naturais como alternativas para tratamento de algumas doenças e também como forma de terapia tem se tornado cada vez mais comum aumentando por sua vez o consumo destes produtos como, por exemplo, os óleos essenciais. Os óleos essenciais (OEs) são essências provenientes de diferentes partes de plantas, e se originam do metabolismo secundário das plantas, sendo extraído de flores, botões, folhas, ramos, cascas, sementes, frutos, raízes e rizomas.

Esses bioprodutos também apresentam compostos aromáticos voláteis como terpenos e seus derivados (carvacrol, timol, eugenol, terpineno, linalol e carvona), que são os principais responsáveis por sua atividade antimicrobiana. Estes compostos são capazes de interagir em diferentes moléculas alvo e nas funções das células bacterianas como mecanismos antibacterianos principalmente de inibição da síntese de ácido nucléico, distúrbios nas propriedades da membrana citoplasmática e no metabolismo energético (SARTO et al., 2014; BARBOSA et al., 2015; POMBO et al., 2018).

Dentre as plantas produtoras de OEs encontra-se a espécie *Piper nigrum* (pimenta-do-reino), originária da Ásia, foi trazida para o Brasil no século XVII, mais especificamente na Bahia, mas teve maior desenvolvimento cultural em 1933. É uma planta trepadeira perene da família das Piperaceas que pode chegar até 5 metros de altura, pode apresentar dois tipos de ramos, o de crescimento e também o de desenvolvimento fixando-se através de raízes grampiformes, outro tipo de ramo é o produtivo que se desenvolve lateralmente e produz os frutos (JESUS et al., 2011).

Do ponto de vista qualitativo, os componentes químicos mais presentes e também importantes encontrados na *P. nigrum*, especificamente nos grãos é a piperina, principal responsável pela pungência, além de fibra crua, amido e resina. Desta forma, este estudo teve por objetivo avaliar o conteúdo fenólico total e atividade antifúngica do óleo essencial de *P. nigrum* frente as cepas de fungos patogênicos (DUARTE et al., 2006).



MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do material vegetal

Foram adquiridos grãos de *P. nigrum* (Produtos Naturais Muniz Distribuidora, LTDA) no município de São Luís, Maranhão e encaminhadas ao Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV/UFMA) para moagem e armazenamento para posteriores análises.

Obtenção do óleo essencial

Para a extração de OE, a técnica de hidrodestilação foi realizada com um extrator de vidro Clevenger acoplado a um balão de fundo redondo acoplado a uma manta aquecedora como fonte geradora de calor. Foram utilizados 100g do material vegetal, adicionando água destilada (1:10). A hidrodestilação foi realizada a 100°C durante 3 h e o OE extraído foi coletado. O OE foi seco por percolação com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e centrifugado. Essas operações foram realizadas em triplicatas e as amostras armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração de 4°C. Posteriormente submetidas às análises.

Fenólicos totais

O teor de fenólicos totais foi determinado para os óleos essenciais pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (LUGASI et al., 1998; OLIVEIRA et al., 2009). Utilizou-se 5 mg do óleo essencial diluído em 1 mL de etanol. A esta solução foi adicionado 7 mL de água destilada, 800 µL do reagente Folin-Ciocalteu a 10% e 2,0 mL de carbonato de sódio a 7,5%. A solução formada foi levada ao banho-maria a 50 °C por 5 min, retirada e deixada para esfriar; e, então, foi realizada a leitura em espectrofotômetro UV-VIS, em comprimento de 760 nm. Como referência, foi obtida uma curva analítica com o ácido tânico, que forneceu a equação da reta para a conversão da absorbância medida em miligrama equivalente de ácido tânico por grama de extrato (mg EAT.g⁻¹).

Padronização do inóculo microbiano para ensaios de sensibilidade

Foram utilizadas três cepas de fungos: *Aspergillus niger* (ATCC 6275), *Colletotrichum gloeosporioides* (ATCC 96723), *Penicillium chrysogenum* (ATCC 10106). Estas foram previamente identificadas e confirmadas pelas provas bioquímicas. Culturas puras mantidas em ágar TSA foram repicadas para caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) e incubadas a 35 °C até atingirem fase exponencial de crescimento (4-6 h). Após esse período, as culturas tiveram sua densidade celular ajustada em solução salina 0,85% estéril, de modo a se obter uma turbidez



comparável à da solução padrão de McFarland 0,5, o que resulta em uma suspensão microbiana contendo aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ de acordo com as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute.

Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração mínima (CFM)

Este ensaio avaliou a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) dos óleos essenciais. O ensaio de CIM foi realizado empregando-se a técnica de diluição em caldo, proposta pela *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Primeiramente foram preparadas soluções do OE utilizando-se Tween 20 a 2%, sendo preparadas diluições seriadas em caldo BHI para o ensaio fúngico, resultando nas concentrações de 10 a 1000 µg mL⁻¹. As nanoemulsões foram diluídas diretamente no meio de cultura.

A cada concentração foram adicionadas suspensões fúngicas contendo $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ das cepas. Os tubos foram incubados a 25°C por 24-48h para as cepas fúngicas. Foram realizados os controles de esterilidade e crescimento para o ensaio realizado. Após o período de incubação, foi verificada CIM do OE, sendo definida como a menor concentração que visivelmente inibiu o crescimento fúngico (ausência de turvação visível). Ensaio realizado em triplicata.

Para o ensaio de CFM das diluições provenientes do caldo BHI que visivelmente inibiram o crescimento fúngico. As alíquotas foram inoculadas em Ágar Sabourad Dextrose (ASD) com posterior incubação a 35°C por 24h. A CFM foi determinada como a menor concentração que visualmente no ensaio de CIM apresentou inibição de crescimento e que nas culturas para os ensaios fungicidas também não apresentaram crescimento visível.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conteúdo fenólico total (CFT)

O resultado do teor de fenólicos total do OE de *P. nigrum* está apresentado na Tabela 1. O conteúdo fenólico total (CFT) foi expresso como equivalentes de ácido tânico (mg EAT g⁻¹) através da equação da reta obtida de $y = 0,0586x + 0,06000$ ($R^2 = 0,9998$), onde y representa a absorbância e x a concentração equivalente de ácido tânico.

Tabela 1. Fenólicos totais presentes no óleo essencial de *P. nigrum*

| OE | Conteúdo Fenólico Total (CFT) | Eq. reta | R ² |
|------------------|-------------------------------|-------------------------|----------------|
| <i>P. nigrum</i> | 140,0 mg EAT g ⁻¹ | $y = 0,0586x + 0,06000$ | 0,9998 |

Fonte: Autor (2021)



A Tabela 1 apresenta os resultados relacionados a quantificação de fenólicos totais identificadas para o OE de *P. nigrum*. Resultados inferiores foram encontrados por Deepshikha et al. (2013) ao avaliarem o teor total de fenólicos do OE de *P. nigrum* com valores de 6,54 mg de EAT g⁻¹.

O conteúdo de fenólicos totais também foram são relativamente em pesquisas utilizando o extrato desta espécie, a exemplo o estudo de Ahmad et al. (2015), que avaliaram o teor do OE com resultado obtido de 1,728±0,0490 mg EAT g⁻¹ para os extratos dos grãos de *P. nigrum*. Shangmugapriya et al. (2012) verificaram o teor de fenólicos totais inferiores ao deste estudo com 3,98±0,06 EAT g⁻¹ para o extrato de *P. nigrum*. Assim como Shangmugapriya et al. (2012) também obtiveram resultados menores utilizando o extrato aquoso, acetônico e acetato de etila obtendo resultados de 1,89±0,08; 2,45±0,06 e 3,34±0,08 respectivamente.

A presença de compostos fenólicos identificados neste estudo está relacionada a propriedades antioxidantes, visto que os mesmos são estruturas químicas que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos, nas formas simples ou de polímeros, que os confere o poder antioxidante. Esses compostos podem ser naturais ou sintéticos (ANGELO et al., 2007). No que tange as propriedades farmacológicas, pesquisas referentes ao potencial anticarcinogênico ou quimiopreventivo, antioxidante, anti-agregante plaquetário e antitrombótico reforçam o uso popular de compostos com tais propriedades (BANERJEE et al., 2006; KUBATKA et al., 2017).

O destaque apresentado na quantificação de fenólicos totais como preditores de atividade antioxidante é notada, visto que a procura de antioxidantes naturais tornou-se significativa nos últimos 20 anos, para aplicações em setores alimentícios e farmacológicos, apresentando como objetivo prioritário na área da pesquisa industrial em relação a antioxidantes, no intuito de substituir pelos antioxidantes sintéticos. Levando em consideração que estes apresentam um grau de rejeição de acordo com as toxidades que esses podem apresentar, dessa forma faz-se necessário a busca desses produtos por meio de fontes naturais (SILVA et al., 2010)

ATIVIDADE FUNGICIDA

A Tabela 2 apresenta a ação antifúngica do OE de *P. nigrum* frente os fungos testados. Observou-se a ação do OE frente a todas as espécies testadas

Tabela 2. Atividade fungicida do óleo essencial de *Piper nigrum* frente as cepas testadas

| Cepa fúngica | OE <i>Piper nigrum</i> | |
|---------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
| | Concentração Inibitória Mínima (CIM) | Concentração Fungicida Mínima (CFM) |
| <i>A. niger</i> | 50 µg mL ⁻¹ | 100 µg mL ⁻¹ |
| <i>C. gloeosporioides</i> | 100 µg mL ⁻¹ | 250 µg mL ⁻¹ |
| <i>P. chrysogenum</i> | 100 µg mL ⁻¹ | 250 µg mL ⁻¹ |

Fonte: Autor (2021)

Nota: CIM, Concentração Inibitória Mínima; CFM, Concentração Fungicida Mínima.

Conforme a Tabela 2, o teste de Concentração Inibitória Mínima apresentou o resultado de inibição ao crescimento microbiano de *A. niger* a partir de 50 µg mL⁻¹, de 100 µg mL⁻¹ para *C. gloeosporioides* e para *P. chrysogenum* a partir de 100 µg mL⁻¹, para o OE. Portanto, segundo a classificação de Aligiannis et al. (2001) para atividade microbiana de produtos vegetais, em relação aos resultados da CIM, classificou o OE da *P. nigrum* com potencial de forte inibição para todos os fungos testados.

Em estudos realizados por Prakash et al. (2012) relacionados a atividade antifúngica de *P. nigrum*, os autores demonstraram inibição a partir da concentração de 30 µg mL⁻¹ frente a *A. niger*, resultado menores aos encontrados neste estudo. No trabalho de Pundir et al. (2010) os resultados obtidos para *P. nigrum* também foram menores, demonstrando para a Concentração Inibitória Mínima valores de concentração a partir de 80 µg mL⁻¹ para o OE de *P. nigrum*.

A atividade observada para o OE pode ser justificada pela presença do componente químico majoritário piperina. As características físicas, químicas e biológicas da piperina estão diretamente relacionadas às propriedades dos óleos essenciais do gênero Pimenta (DUARTE et al., 2006)

De acordo com estudos feitos por Melo et al. (2020) a composição química média do óleo essencial da *P. nigrum* possui cerca de 80% de monoterpenos como hidrocarbonetos monoterpênicos (sabineno, β-pineno, limoneno, terpineno, α-pineno, mirceno), monoterpenos oxigenados (borneol, carvona, carvacrol, 1,8-cineol e linalol) 20% de compostos sesquiterpênicos (β-cariofileno, humuleno, β-bisabolona e óxido carofileno) e com quantidades vestigiárias de eugenol, miristicina e safrol (Cunha et al., 2012). Orav et al., (2004) e Liu et al., (2007) afirmaram que os constituintes de maior proporção são: β-cariofileno, dlimoneno e β-pineno, evidenciando que o óleo essencial extraído apresenta um perfil cromatográfico com substâncias majoritárias semelhantes as desenvolvidas em outros estudos.



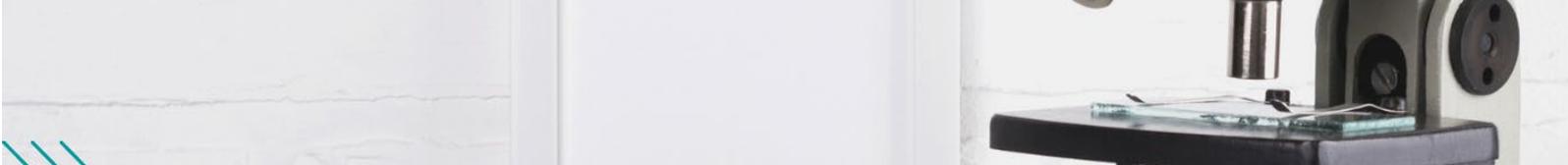
Souza Filho et al. (2009) confirmam que existe considerável variação na composição dos constituintes do óleo essencial de certas espécies de plantas e que esta variação pode ser função da sazonalidade, das condições edafoclimáticas, da diferença entre indivíduos de diferentes populações ou mesmo de uma mesma população.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por fim, conclui-se que o óleo essencial é composto por substâncias que propiciam suas aplicações. Os resultados obtidos a partir da avaliação do teor do conteúdo fenólico total, e atividade fungicida do óleo essencial extraído a partir dos grãos de *P. nigrum*, possui um teor fenólico que está diretamente relacionado ao seu potencial antioxidante, e também apresenta uma atividade antifúngica eficiente frente as cepas testadas no estudo, resultado este que está atrelada aos seus constituintes químicos, como a piperina.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, A. et al. Quantificação de fenol total, conteúdo de flavonóides e avaliação farmacognóstica incluindo impressão digital HPTLC para a padronização de frutas *Piper nigrum* Linn. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 2, pág. 101-107, 2015.
- ALIGIANNIS, N. et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, n. 9, p. 4168-4170, 2001.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos-uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 66, n. 1, p. 01-09, 2007.
- ANTONIO, G. D.; TESSER, C. D.; MORETTI-PIRES, R. O. Phytotherapy in primary health care. **Revista de saude publica**, v. 48, p. 541-553, 2014.
- BANERJEE, S. et al. (*Syzygium aromaticum* L.), a potential chemopreventive agent for lung cancer. **Carcinogenesis**, v. 27, n. 8, p. 1645-1654, 2006.
- BARBOSA, L. N. et al. In vitro antibacterial and chemical properties of essential oils including native plants from Brazil against pathogenic and resistant bacteria. **Journal of oleo science**, v. 64, n. 3, p. 289-298, 2015.
- DA CUNHA, A. et al. Plantas aromáticas e óleos essenciais: composição e aplicações. Fundação Calouste Gulbenkian, 2012.
- DE JESUS, L. R. et al. Obtenção de híbridos em pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) através de polinização controlada. In: **Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 15., 2011, Belém, PA. A ciência de fazer ciência: anais. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2011.



DE MELO, A. M. et al. EXTRAÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E ESTUDO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE PIMENTA-PRETA (*Piper nigrum* L.), BIOMONITORADO POR *Artemia salina* Leach. *HOLOS*, v. 1, p. 1-16, 2021.

DUARTE, M. et al. A cultura da pimenta-do-reino. **Área de Informação da Sede-Col Criar Plantar ABC 500P/500R Saber (INFOTECA-E)**, 2006.

FONTENELE, R. F. et al. Fitoterapia na Atenção Básica: olhares dos gestores e profissionais da Estratégia Saúde da Família de Teresina (PI), Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 18, p. 2385-2394, 2013.

GUPTA, D.; Comparative analysis of spices for their phenolic content, flavonoid content and antioxidant capacity. *Am Int J Res Form Appl Nat Sci*, v. 4, n. 1, p. 38-42, 2013.

HUMPHRIES, R. M. et al. First report of ceftazidime-avibactam resistance in a KPC-3-expressing *Klebsiella pneumoniae* isolate. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, v. 59, n. 10, p. 6605-6607, 2015.

KUBATKA, P. et al. Antineoplastic effects of clove buds (*Syzygium aromaticum* L.) in the model of breast carcinoma. *Journal of cellular and molecular medicine*, v. 21, n. 11, p. 2837-2851, 2017.

LEITE, S. N. et al. Fitoterapia no Serviço de Saúde: significados para clientes e profissionais de saúde. *Saúde em debate*, v. 29, n. 69, p. 78-85, 2005.

LUGASI, A. et al. Antioxidant and free radical scavenging properties of squeezed juice from black radish (*Raphanus sativus* L. var *niger*) root. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 12, n. 7, p. 502-506, 1998.

LUZ, M. T.; Cultura contemporânea e medicinas alternativas: novos paradigmas em saúde no fim do século XX. *Physis: revista de saúde coletiva*, v. 15, p. 145-176, 2005.

MARTINS, T. et al., Quantificação do conteúdo fenólico total e atividade toxicológica dos óleos de *Piper nigrum*, *Salvia rosmarinus* e *Pimpinella anisum*, **I Simposio Estadual de Produtos Naturais**, 2021.

OLIVEIRA, M. et al. Fitoterapia no sistema de saúde pública (SUS) no estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, p. 39-41, 2006.

ORAV, A. et al. Effect of storage on the essential oil composition of *Piper nigrum* L. fruits of different ripening states. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, n. 9, p. 2582-2586, 2004.

POMBO, J. S. P. et al. Efeito antimicrobiano e sinérgico de óleos essenciais sobre bactérias contaminantes de alimentos. *Segurança Alimentar e Nutricional*, v. 25, n. 2, p. 108-117, 2018.

PRAKASH, B. et al. Safety assessment of *Zanthoxylum alatum* Roxb. essential oil, its antifungal, anti-aflatoxin, antioxidant activity and efficacy as antimicrobial in preservation of *Piper nigrum* L. fruits. *International journal of food microbiology*, v. 153, n. 1-2, p. 183-191, 2012.



PUNDIR, R. K. et al. Comparative studies on the antimicrobial activity of black pepper (*Piper nigrum*) and turmeric (*Curcuma longa*) extracts. **International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology**, v. 1, n. 2, p. 492-500, 2010.

SARTO, M. P. M. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. **Revista UNINGÁ Review**, v. 20, n. 1, 2014.

SILVA, M. L. C. et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-681, 2010.

SOUZA FILHO, A. P. S. et al. Atividade potencialmente alelopática do óleo essencial de *Ocimum americanum*. *Planta daninha*, v. 27, n. 3, p. 499-505, 2009.

TOMAZZONI, M. I. Subsídios para a introdução do uso de fitoterápicos na rede básica de saúde do município de Cascavel/PR [dissertação]. **Curitiba: Universidade Federal do Paraná**, 2004.



CAPÍTULO 3

ANÁLISE DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO AR EM UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARANÁ

Clebes Iolanda Leodice Alves
Leonice Aparecida de Fátima Alves Pereira Mourad

RESUMO

O presente artigo consiste em um estudo experimental cujo propósito é avaliar a qualidade microbiológica do ar interno de uma Instituição de Ensino Superior (IES), localizada no oeste do estado do Paraná. A importância de estudos desse tipo está diretamente relacionada à exposição excessiva, nos dias atuais, a ambientes com sistemas de climatização artificial, responsável pelo aumento de riscos decorrentes da presença de microrganismos como fungos e bactérias. O estudo evidenciou a adequação dos parâmetros referentes à condição do ar, no espaço referido. Inobstante a isso é de suma importância o cuidado em manter/estabelecer, nesses espaços, ações preditivas, preventivas e corretivas referentes ao controle da colonização de patógenos nocivos à saúde do público.

PALAVRAS-CHAVE: Aerossóis. Ar-condicionado. Poluição do ar de interiores. Saúde pública.

INTRODUÇÃO

Atualmente, devido à grande carga laboral e de estudo, passa-se boa parte do dia dentro de ambientes fechados com reduzida captação de ar do meio externo. Tais ambientes, por não proporcionarem o contato direto com as condições físicas externas, como temperatura, umidade e velocidade do ar, em grande parte, possuem sistemas de climatização artificial, o que propicia exposição a riscos decorrentes presença de microrganismos como fungos e bactérias.

Esses contaminantes biológicos encontram-se em diferentes locais como residências, indústrias, escolas, escritórios e desenvolvem-se principalmente, em ambientes como reservatórios de água, locais com alta umidade, podendo entrar em locais fechados trazidos pelas pessoas ou por animais, insetos (BATISTA, 2008, p. 17). Ao encontro dessa ideia, Caldeira et al. (2011, p. 52) menciona que

Problemas relacionados à qualidade do ar de interiores (QAI) são mundialmente reconhecidos como um fator de risco para a saúde humana e uma importante questão de Saúde Pública[...]. Recentemente, a Organização Mundial da Saúde (OMS) apontou a poluição do ar de interiores como responsável por 2,7% dos casos de doenças respiratórias e alérgicas no mundo, causadas principalmente pela presença de bioaerossóis no ambiente [...] (CALDEIRA et al., 2011, p. 52).

A incidência de poluentes em ambientes fechados decorre das baixas taxas de renovação de ar, podendo ocasionar a *Síndrome do Edifício Doente*, que conforme a Organização Mundial



da Saúde (OMS), a classificou como “[...] uma série de sintomas gerais, que epidemiologicamente afetam ocupantes de um ambiente fechado sem origens determinadas e que, quando os queixosos são afastados do ambiente, apresentam melhoras espontâneas dos sintomas” (AGUSTINI, 2021, slide. 15).

Esses agentes contaminantes ocasionam doenças respiratórias infecciosas ou alérgicas tais como: difteria, meningite, pneumonia, tuberculose, aspergilose, blastomicose, histoplasmose (AGUSTINI, 2021, slide 10).

Tal situação é comumente relacionada a um projeto inadequado para a climatização do ambiente, visando a diminuição dos custos de implementação do sistema de condicionamento do ar, bem como a falta de manutenção periódica dos filtros e outros componentes que conferem a qualidade do ar que circula por esses aparelhos.

As legislações que regem os parâmetros referentes a qualidade do ar são a Nota Técnica Portuguesa NT-SCE de 2006, que estabelece o valor máximo de UFC/m³ de bactérias, enquanto que a Resolução Nº 9 de 2003, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), normatiza a presença de fungos e a relação I/E. Além disso, essa resolução nacional também define ambiente climatizado como “[...] espaços fisicamente determinados e caracterizados por dimensões e instalações próprias, submetidos ao processo de climatização, através de equipamentos” (BRASIL, 2003).

Sobre as possíveis implicações na saúde decorrentes desta climatização artificial, principalmente no que tange a falta de medidas de higiene e manutenções, Batista (2008) alerta-nos que isso pode ocasionar

Infecções, doenças causadas por microorganismos que invadem os tecidos humanos (resfriado comum e tuberculose), hipersensibilidade causada por uma ativação específica do sistema imunológico e toxicidade são conseqüências da presença de agentes biológicos no ar interno onde, na maioria das vezes, ocorreu proliferação desses agentes devido às falhas no projeto do edifício, no sistema de ventilação ou ar condicionado (BATISTA, 2008, p.17-18).

De acordo com Nunes (2005) “Uma variedade enorme de contaminantes é encontrada no ar interno das edificações podendo ser produzidos ou introduzidos nesse ambiente”. E ainda complementa que “[...] são facilmente distinguíveis quanto à sua natureza, podendo ser classificados como químicos, físicos ou biológicos” (NUNES, 2005, p. 5).

Sobre a qualidade do ar no interior das edificações, Fakhoury (2017) assevera que “a maioria das pessoas tende a acreditar que o ar que se respira no interior dos edifícios é mais limpo e saudável. No entanto é preciso considerar que a contaminação do ar atmosférico não



está limitada apenas ao meio exterior [...]” (FAKHOURY, 2017, p. 21).

Corroborando com essa ideia, Barbosa (2018, p. 6) refere que

A qualidade do ar em ambientes internos tem sido causa de preocupação nos últimos anos devido à deterioração do ar em muitos espaços coletivos de uso público e privado, com ventilação natural ou mecânica como o caso de instalação de equipamentos. Em salas de aulas a situação não é diferente, pois os alunos e professores permanecem quase a totalidade do seu dia nestes espaços ficando expostos a tais poluentes (BARBOSA, 2018, p. 6).

O controle da qualidade do ar interno garante a saúde dos indivíduos, principalmente do grande número de estudantes, professores e outros funcionários que circulam nessa IES e permanecem nesses ambientes climatizados. Isso posto, fica evidente a relevância desse estudo para a avaliar a qualidade do ar e minimizar a exposição a esses riscos biológicos.

OBJETIVOS

Objetivo geral

- Avaliar a qualidade microbiológica do ar interno de uma Instituição de Ensino Superior (IES), localizada no oeste do estado do Paraná.

Objetivos específicos

- Quantificar o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de fungos e bactérias Gram-negativas presentes dentro de uma sala de aula e de um laboratório de microbiologia da IES, localizada no oeste do estado do Paraná.
- Comparar os resultados obtidos nas análises realizadas com os valores preconizados pela legislação reguladora vigente.
- Comparar os resultados obtidos das análises quantitativas de microrganismos com outros estudos símeis.

MATERIAIS E MÉTODOS

Esse estudo ocorreu em dois ambientes internos (sala de aula e laboratório de microbiologia) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), localizada na Avenida Brasil, 4.232, Parque Independência, na cidade de Medianeira, oeste do Paraná. Juntamente com outros doze campus, compõem a única Universidade Tecnológica do Brasil, que em setembro próximo completará 112 anos. Já o campus de Medianeira, completou, em março último, 31 anos e conta com uma área com mais de 32 mil m² e cerca de 300 servidores, entre professores e técnicos administrativos.

Nesse campus são ofertados nove cursos de graduação, sendo que quatro utilizam o



laboratório de microbiologia. São eles: bacharelados em Engenharia Ambiental e Engenharia de Alimentos, Tecnologia em Gestão Ambiental e Tecnologia em Alimentos, em disciplinas como Microbiologia Geral, Microbiologia Ambiental e Microbiologia de Alimentos. Alunos do curso de Licenciatura em Química, também possuem na sua grade curricular, na modalidade optativa, a disciplina de microbiologia que utiliza o laboratório.

Além disso, outros alunos não diretamente ligados aos cursos supracitados, também podem utilizar tal laboratório em pesquisas ligadas aos seus trabalhos de conclusão de curso (TCCs) e/ou em atividades de pesquisa ligadas a iniciação científica (IC) ou mestrado.

Para a análise microbiológica do ar dos dois ambientes supracitados, utilizou-se os seguintes materiais:

- Trinta e duas placas de Petri com 9 cm de diâmetro;
- Ágar Rosa Bengala Cloranfenicol (DRBC Ágar) e
- Ágar MacConkey

Utilizando técnica asséptica, preparou-se as placas de Petri com Ágar Rosa Bengala Cloranfenicol (DRBC Ágar), meio de cultura com nutrientes favoráveis à formação de colônias de fungos. Com o mesmo protocolo asséptico, preparou-se as placas para a formação de colônias de bactérias, utilizando Ágar MacConkey.

Após a devida identificação, colocou-se as referidas placas abertas numa sala de aula e no laboratório de microbiologia da IES, da seguinte forma: quatro placas no interior da sala de aula e do laboratório de microbiologia e outras quatro no exterior desses mesmos ambientes para a detecção de fungos. Da mesma forma, ocorreu a disposição de placas de Petri para a detecção de bactérias nesses dois locais, tanto internamente quanto externamente.

Alguns cuidados foram tomados para que esse experimento tivesse o mínimo de interferências/erros, como por exemplo: evitou-se colocar as placas próximas de paredes ou outros obstáculos, dispostas a uma altura mínima e distantes também de janelas ou portas, devido às correntes de ar.

O método utilizado para a análise microbiológica do ar foi a sedimentação espontânea (ou método gravitacional), que segundo Nunes (2005) consiste em “[...] em expor placas de Petri, contendo os meios de cultura de escolha, no ambiente a ser estudado, de forma que as partículas dispersas no ar sofram sedimentação pela força da gravidade” (NUNES, 2005, p. 10), com tempo de exposição de 30 minutos.

Decorrido esse tempo de sedimentação, incubou-se as placas com meio de cultura para de fungos por sete dias, a uma temperatura de 26° C. Já o tempo decorrido para incubar as placas para bactérias, foi de dois dias, a uma temperatura de 35° C.

Após o tempo, realizou-se a contagem das colônias e o cálculo do número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/m³), conforme formulação de Friberg, Friberg e Burman (1999), que segundo Moraes et al. (2009, p. 306) “[...] compreende a relação numérica do produto da contagem de unidades formadoras de colônias depositadas em uma superfície por um determinado tempo com a área exposta sobre a média de ar na superfície” (MORAIS et al., 2009, p. 306).

Figura 1 – Fórmula para calcular o número de UFC/m³ pelo método de sedimentação em placa

$$n^{\circ} \text{ de UFC por m}^3 = \frac{n^{\circ} \text{ UFC por caixa}}{\text{área da caixa (m}^2\text{)}} \times \frac{1}{23}$$

Fonte: Agustini, 2021.

A mesma autora refere ainda que “a razão 1:23 relaciona o número de células na superfície e o número de células no ar (SAR) em ambientes com sedimentação espontânea” (MORAIS et al., 2010, p. 306).

De posse desses dados, calculou-se a relação entre a qualidade do ar interno e externo dos ambientes estudados, que, segundo Brasil (2003) justifica-se uma vez que “A relação I/E é exigida como forma de avaliação frente ao conceito de normalidade, representado pelo meio ambiente exterior e a tendência epidemiológica de amplificação dos poluentes nos ambientes fechados” (BRASIL, 2003).

Os dados arrolados neste estudo foram lançados e modelados em planilhas do software editor Microsoft Office Excel ®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para inferirmos a respeito da qualidade microbiológica do ar interno da sala de aula e do laboratório de microbiologia, inicialmente calculamos a área das placas de Petri. A seguir, modelou-se os dados obtidos após a incubação das bactérias, conforme verifica-se na tabela 2.

| Placas de Petri | Nº de colônias | Nº de Unidades Formados de colônias UFC (m³) |
|-----------------------------------|--|--|
| S int bac 1 | 0 | 0,000 |
| S int bac 2 | 0 | 0,000 |
| S int bac 3 | 0 | 0,000 |
| S int bac 4 | 0 | 0,000 |
| S ext bac 1 | 0 | 0,000 |
| S ext bac 2 | 0 | 0,000 |
| S ext bac 3 | 0 | 0,000 |
| S ext bac 4 | 0 | 0,000 |
| L int bac 1 | 0 | 0,000 |
| L int bac 2 | 10 | 68,344 |
| L int bac 3 | 1 | 6,834 |
| L int bac 4 | 1 | 6,834 |
| L ext bac 1 | 0 | 0,000 |
| L ext bac 2 | 0 | 0,000 |
| L ext bac 3 | 0 | 0,000 |
| L ext bac 4 | 0 | 0,000 |
| Ambiente interno e externo | Somatório das UFCs em cada ambiente, local, microrganismos (m³) | Média das UFCs em cada ambiente, local, microrganismos (m³) |
| Amb. int. L bac. | 82,012 | 9,112 |
| Amb. ext. L bac. | 0,000 | 0,000 |
| Amb. int. S bac. | 0,000 | 0,000 |
| Amb. ext. S bac. | 0,000 | 0,000 |
| Relação I/E | Valores | |
| Bactérias sala de aula | | 0,000 |
| Bactérias laboratório | | Não foi possível calcular |

Fonte: Alves e Mourad, 2021.

Sendo:

- **S** as placas de Petri dispostas na sala de aula, interna (int) e externamente (ext).
- **L** as placas de Petri dispostas no laboratório de microbiologia, interna (int) e externamente (ext).

A norma que regulamenta a qualidade do ar interno referente a presença de bactérias é a Nota Técnica portuguesa NT-SCE-02 de 2006 e estabelece o limite de 500 UFC/m³ para bactérias. Desta forma, a qualidade do ar interno da sala de aula, no que tange a presença desses microrganismos, como apresentou resultados nulos, devido a não presença desses microrganismos, indica uma condição satisfatória para os integrantes da comunidade universitária que por lá circulam.

A I/E de bactérias do laboratório não pode ser calculada, pois constatou-se que no ar externo não houve contagem de colônias, enquanto que internamente obtivemos um valor

médio de UFC/m³ igual a 9,122. Esse dado é preocupante, pois o esperado é que tais microrganismos estejam em maior número nos ambientes externos.

Essa ocorrência indica a necessidade de algumas medidas, tais como: melhorar a limpeza das superfícies do ambiente, verificar o estado dos filtros do ar condicionado, arejar o ambiente, entre outras.

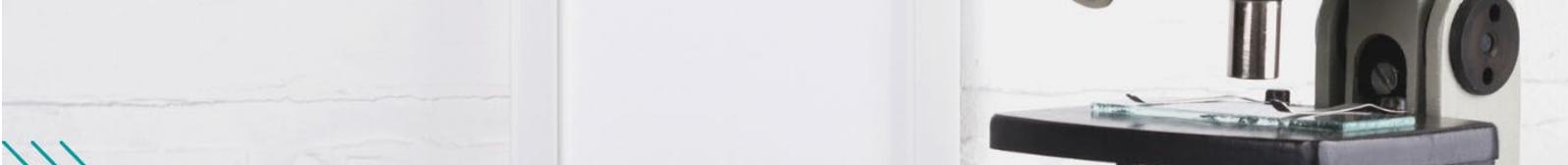
Os dados obtidos após a incubação dos fungos, foram modelados conforme verifica-se na tabela 3.

Tabela 3 – Fungos presentes no ar de IES

| Placas de Petri | Nº de colônias | Nº de Unidades Formadas de colônias UFC (m ³) |
|-----------------------------------|---|---|
| S int fun 1 | 0 | 0,000 |
| S int fun 2 | 0 | 0,000 |
| S int fun 3 | 0 | 0,000 |
| S int fun 4 | 0 | 0,000 |
| S ext fun 1 | 0 | 0,000 |
| S ext fun 2 | 0 | 0,000 |
| S ext fun 3 | 0 | 0,000 |
| S ext fun 4 | 0 | 0,000 |
| L int fun 1 | 0 | 0,000 |
| L int fun 2 | 10 | 68,344 |
| L int fun 3 | 1 | 6,834 |
| L int fun 4 | 1 | 6,834 |
| L ext fun 1 | 0 | 0,000 |
| L ext fun 2 | 0 | 0,000 |
| L ext fun 3 | 0 | 0,000 |
| L ext fun 4 | 0 | 0,000 |
| Ambiente interno e externo | Somatório das UFCs em cada ambiente, local, microrganismos (m³) | Média das UFCs em cada ambiente, local, microrganismos (m³) |
| Amb. int. L fun | 416,895 | 104,224 |
| Amb. ext. L fun | 724,441 | 181,110 |
| Amb. int. S fun | 403,227 | 100,807 |
| Amb. ext. S fun | 546,748 | 136,687 |
| Relação I/E | Valores | |
| Fungos sala de aula | | 0,738 |
| Fungos laboratório | | 0,575 |

Fonte: Alves e Mourad, 2021.

O valor médio UFC/m³ de fungos presentes na sala de aula e no laboratório de microbiologia, 100,807 e 104,224 respectivamente, ficaram abaixo do Valor Máximo Recomendável (VMR) estabelecido pela legislação, a qual determina que deve ser ≤ (menor ou igual) 750 UFC/m³ de fungos. A relação I/E para fungos desse estudo que, segundo a mesma resolução normativa, deve ser ≤ (menor ou igual) a 1,5, alcançou os valores satisfatórios de



0,738 (sala de aula) e 0,575 (laboratório).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo teve como escopo a avaliação da qualidade do ar interior de dois espaços dentro de uma Universidade Tecnológica Federal situada no município de Medianeira/PR. Estudos relacionados à qualidade interna do ar são instrumentos eficazes para o controle microbiológico do ar de ambientes com grande fluxo de pessoas, tais como universidades.

De acordo com os resultados encontrados, pode afirmar-se que as concentrações de microrganismos (fungos e bactérias) nesses ambientes climatizados, estão de acordo com a Nota Portuguesa e com o Valor Máximo Recomendado (VMR) estipulado pela ANVISA.

Vale salientar que apesar dos valores de concentrações de microrganismos encontrados estarem abaixo dos normatizados, é importante manter/estabelecer, nesses espaços, ações preditivas, preventivas e corretivas referentes ao controle da colonização de patógenos nocivos à saúde do público que frequenta esses espaços.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUSTINI, Márcia Antonia Bartolomeu. Aeromicrobiologia. Microrganismos do ar. 2020. 20 slides. Disponível em:

<https://classroom.google.com/u/0/c/MzU4Nzg4MjU1MzEy>. Acesso em 26 ago 2021.

BARBOSA, Carolina Cristina. **Avaliação da qualidade do ar interno em salas de aula em um campus universitário**. 2018. 68 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2018. Disponível em: http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/10840/1/LD_COEAM_2018_2_08.pdf. Acesso em 26 ago 2021.

BATISTA, Carla Alice Theodoro. **Poluição do ar de interiores: uma avaliação de casos relacionados à climatização artificial**. 2008. 36 f. Monografia (Especialização em Análise Ambiental). Faculdade de Engenharia. Universidade Federal de Juiz de Fora, 2008. Disponível em: <http://www.ufjf.br/analiseambiental/files/2009/11/Carla-Alice-Theodoro-Batista.pdf>. Acesso em 27 ago 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução Nº 9, de 16 de janeiro de 2003. Determina a publicação de Orientação Técnica elaborada por Grupo Técnico Assessor, sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior, em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo. **DOU**. Brasília, 2003. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RE_09_2003_.pdf/8ccafc91-1437-4695-8e3a-2a97deca4e10. Acesso em 26 ago 2021.



CALDEIRA, Cristiane et al. Avaliação microbiológica da qualidade do ar de interiores: aspectos metodológicos e legais. **Universitas: Ciências da Saúde**. V. 10, n. 1, p. 51- 60, jan/jun 2012. Brasília. Disponível em: <https://www.publicacoesacademicas.uniceub.br/cienciasaude/article/view/1656>. Acesso em 27 ago 2021.

FAKHOURY, Nicolas Alexandre. **Estudo da qualidade do ar interior em ambientes educacionais**. 2017, 196 f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, 2017. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3150/tde-11072017-135147/publico/NicolasAlexandreFakhouryCorr17.pdf>. Acesso em 25 ago 2021.

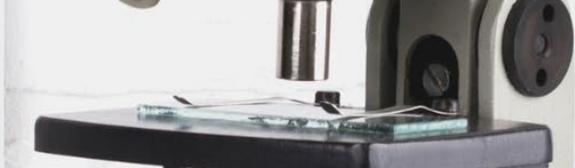
MORAIS, Gilsimeire Rodrigues et al. Qualidade do ar interno em uma instituição de ensino superior brasileira. **Bioscience Journal**. V. 26, n. 2, p. 305-310, Mar./Abr. 2010. Uberlândia. Disponível em: <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/7112/4694>. Acesso em 26 ago 2021.

NUNES, Zilma das Graças. **Estudo da qualidade microbiológica do ar de ambientes internos climatizados**. 2005, 143 f. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária). Instituto de Controle da Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2005. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/8254/2/148.pdf>. Acesso em 26 ago 2021.

PORTUGAL. Nota Técnica NT-SCE-02, de 2006. Estabelece a metodologia de auditoria à Qualidade do Ar Interior (QAI). Disponível em: <http://www.enviro.pt/index.php/documentos?task=document.viewdoc&id=14>. Acesso em 26 ago 2021.

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ. UTFPR 110 anos mais.

EDUTFPR. Edição bilingue, 122 p. Curitiba, 2020. Disponível em: http://www.utfpr.edu.br/comunicacao/produtos/materiaiscomemorativos/livro_utfpr_110mais.pdf. Acesso em 27 ago 2021.



CAPÍTULO 4

SAÚDE PÚBLICA E ÁGUA: ESTUDO MICROBIOLÓGICO DE AMOSTRA DE ÁGUA DE POÇO DE CAPTAÇÃO

Clebes Iolanda Leodice Alves
Leonice Aparecida de Fátima Alves Pereira Mourad
Nathalia Boeira Coghetto
Nathalia Roberta Dias dos Santos

RESUMO

O consumo de água pela população da zona rural, normalmente se dá por meio de poços de captação não tratadas, uma vez que a água tratada, que é distribuída pelas empresas que detém a concessão e permissão da prestação de serviços, não abastece essas regiões. Desta forma, essa população pode estar exposta ao consumo de água fora dos critérios para o consumo humano, estando desta forma, em risco de desenvolver agravos relativos à veiculação hídrica de microrganismos causadores de patologias. O presente estudo teve como escopo avaliar a qualidade microbiológica das águas consumidas numa comunidade da zona rural da cidade de Medianeira, no Oeste do Paraná. As amostras de água foram analisadas quali e quantitativamente de acordo com os parâmetros microbiológicos, como a presença de coliformes totais e termotolerantes, além de *Escherichia Coli*. Os resultados obtidos evidenciam a presença de coliformes totais e termotolerantes, este último não se tratava de *Escherichia coli*, que é de origem exclusivamente fecal. Houve formação de colônias da bactéria *Klebsiella*, pertencente à família *Enterobacteriaceae*. Com os resultados obtidos no presente estudo conclui-se que a água de consumida de poço de captação da zona rural do município de Medianeira, apresenta problemas no tocante a sua potabilidade, uma vez que está em desacordo com os padrões microbiológicos vigentes na legislação brasileira, sendo considerada imprópria para o consumo humano, sob risco de incidência de agravos à saúde dessa população.

PALAVRAS-CHAVE: Saúde Pública. Abastecimento de água. Coliformes fecais. Poços artesanais.

INTRODUÇÃO

A água pode ser transmissora de várias patologias, principalmente nos países periféricos, onde as condições sanitárias deixam a desejar. Tais patologias são transmitidas pela via oro fecal, através da ingestão de água e/ou alimentos contaminados por microrganismos entoparasitos.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estabelece critérios de qualidade da água, para assegurar que ela seja potável e segura para o consumo humano. Esses critérios convergem para o bem-estar psicológico, físico, mental e social da população (OMS, 2017).

No Brasil, os padrões de potabilidade para água de abastecimento público e de sistemas alternativos, são determinados pela Portaria da Consolidação Nº 5, de 28 de setembro de 2017



em seu Anexo XX, que define os padrões de potabilidade, vigilância e procedimentos de controle para que a água consumida seja potável e segura (BRASIL, 2017, p. 432).

Tal Portaria destaca ainda no seu artigo terceiro:

Art. 3º Toda água destinada ao consumo humano, distribuída coletivamente por meio de sistema ou solução alternativa coletiva de abastecimento de água, deve ser objeto de controle e vigilância da qualidade da água. (Origem: PRT MS/GM 2914/2011, Art. 3º) (BRASIL, 2017, p. 432).

As principais variáveis microbiológicas avaliadas na água são: coliformes totais e tolerantes e *Escherichia coli* (*E. coli*). Os coliformes, encontrados, em boa parte, em animais de sangue quente, são organismos indicadores, ou seja, apontam a probabilidade da presença de microrganismos patogênicos. Já o indicador patogênico de origem fecal mais importante é a *Escherichia coli*, caracterizada como termotolerante e indicador de contaminação fecal, uma vez que essa bactéria habita exclusivamente o trato intestinal de humanos e animais de sangue quente (HOFSTÄTTER, 2021, p. 25).

O consumo de água na zona rural se dá comumente por poços de captação, considerados como uma solução alternativa e coletiva às localidades sem rede de distribuição de água. Esse fato aumenta o risco de ocorrência de surtos de doenças de veiculação hídrica, uma vez que, tais poços estão, muitas vezes, em condições precárias, com falta de vedação adequada ou ainda próximos de fontes de contaminação, como áreas ocupadas por animais ou contaminadas pela proximidade de fossas sépticas, visto que o esgotamento sanitário também é pouco frequente nessas localidades rurais.

Salinget al. (2017) sugere que “[...] a desinfecção da água destes poços utilizando o processo da cloração, por exemplo, pode ser eficiente para a remoção dos contaminantes microbiológicos, o que já melhora a qualidade da água dos poços” (SALING et al., 2017, p. 63).

Dentre as principais doenças e agravos à saúde, destacam-se amebíase, giardíase, gastroenterite, febre tifoide e paratifoide, hepatite infecciosa (Hepatite A e E) e cólera.

Os autores Amaral et al. (2003) referem que

A maioria das doenças nas áreas rurais podem ser consideravelmente reduzidas, desde que a população tenha acesso a água potável. Entretanto, um dos maiores problemas das fontes particulares é a ausência de monitoramento da qualidade da água consumida (AMARAL et al., 2003, p. 511).

Sobre a incidência de doenças e agravos de veiculação hídrica, a Diretriz para Atuação em Situações de Surtos de Doenças e Agravos de Veiculação Hídrica, do Ministério da Saúde (2018), afirma que



Surtos de doenças e agravos de veiculação hídrica podem ocorrer devido a diversos fatores, como as condições deficientes de saneamento e, em particular, devido ao consumo de água em quantidade insuficiente e qualidade inadequada para atender às necessidades individuais e coletivas da população. Isso ocorre porque a água pode veicular substâncias químicas e agentes biológicos nocivos à saúde (BRASIL, 2018, p. 11).

Tal normativa ainda complementa que tais agentes biológicos, como protozoários, helmintos, bactérias e vírus podem adentrar no organismo humano por meio da ingesta hídrica contaminada e “[...] de alimentos irrigados ou lavados com água contaminada” (BRASIL, 2018, 11-12).

Para garantir a potabilidade da água e o seu consumo em condições adequadas, é fundamental analisar a qualidade microbiológica de água, através da avaliação da presença de coliformes totais e termotolerantes (fecais) e *Escherichia Coli* na água de poço de captação semiartesiano que abastece comunidade da zona rural do município de Medianeira, localizado no oeste do Paraná.

OBJETIVOS

Objetivo geral

- Avaliar a qualidade microbiológica da água de poço de captação semiartesiano que abastece comunidade da zona rural do município de Medianeira, localizado no oeste do Paraná.
- Avaliar a qualidade microbiológica da água de poço de captação semiartesiano que abastece comunidade da zona rural do município de Medianeira, localizado no oeste do Paraná.

Objetivos específicos

- Avaliar a presença de coliformes totais e coliformes termotolerantes na água de poço de captação semiartesiano que abastece comunidade da zona rural do município de Medianeira, localizado no oeste do Paraná.
- Avaliar a presença de *Escherichia Coli* na água de poço de captação semiartesiano que abastece comunidade da zona rural do município de Medianeira, localizado no oeste do Paraná.
- Quantificar os coliformes totais e termotolerantes presentes na água de poço de captação semiartesiano que abastece comunidade da zona rural do município de Medianeira, localizado no oeste do Paraná.
- Comparar os resultados obtidos nas análises realizadas com os valores



preconizados pela legislação reguladora vigente.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

Esse estudo ocorreu em comunidade da zona rural do município de Medianeira, localizado no oeste do Paraná. De acordo com informações disponibilizadas no site da Prefeitura Municipal [201-], o município está a uma altitude de 402 m acima do mar, com coordenadas de 25°17'40" S e 54°05'30" O. Ao Norte, limita-se com o município de Missal, ao Oeste com São Miguel do Iguaçu, ao sul com o município de Serranópolis do Iguaçu e ao leste com Matelândia.

Segundo estimativa do IBGE, em 2020, o município tinha área territorial de 328,732 km², população de 46.574 pessoas e esgotamento sanitário de 23,6%. Conforme o Instituto Água e Saneamento (IAS), do total de habitantes, 89,41% residem na área urbana e 10,59% na rural.

A coleta de amostra de água se deu num poço de captação semiartesiano usado por pessoas dessa comunidade, como fonte de abastecimento, uma vez que a comunidade não é abastecida pela companhia abastecedora do município.

A amostra coletada foi armazenada em frascos coletores devidamente higienizados e mantidos em caixas térmicas até a chegada no laboratório, onde ficaram sob refrigeração até o momento da execução das análises.

Análises microbiológicas

Materiais do ensaio

Para a análise microbiológica da amostra de água coletada em poço de captação semiartesiano, utilizou-se os seguintes materiais:

- Tubos de ensaio;
- Tubos de Durham;
- Alça de inoculação;
- Pipetas automáticas;
- Placa de Petri;
- Meios de cultura: Caldo LST (Lauril sulfato triptose); Caldo Bile Verde Brillante (BVB) e Caldo Escherichia Coli (EC).



Execução do ensaio

Para a determinar o número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes presentes na amostra, foi realizada a técnica de tubos múltiplos, que consiste, segundo a Norma Técnica L5.202 da CETESB (2018) na “[...] inoculação de volumes decrescentes da amostra em meio de cultura adequado ao crescimento dos microrganismos pesquisados, sendo cada volume inoculado em uma série de tubos” (CETESB, 2018, p. 13).

Ainda conforme CETESB (2018) “O exame para determinação de coliformes totais se processa por meio de 2 etapas (ensaios presuntivo e confirmativo), de realização obrigatória para todos os tipos de amostras de água, [...]” (CETESB, 2018, p. 13).

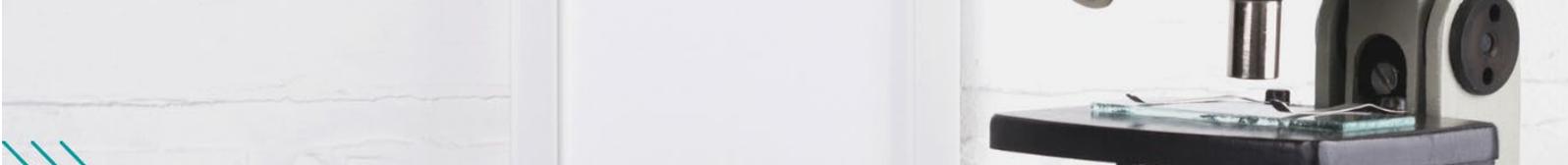
Nesse ensaio, usou-se inicialmente 15 tubos de ensaio/tubos de Durham separados em três séries e identificados conforme a quantidade de água bruta que receberiam (10 ml, 1 ml e 0,1 ml). Tal técnica, conforme Cetesb (2018), consiste na

[...] inoculação de volumes decrescentes da amostra em meio de cultura adequado ao crescimento dos microrganismos pesquisados, sendo cada volume inoculado em uma série de tubos. Por meio de diluições sucessivas da amostra, são obtidos inóculos, cuja semeadura fornece resultados negativos em pelo menos um tubo da série em que os mesmos foram inoculados; e a combinação de resultados positivos e negativos permite a obtenção de uma estimativa de densidade das bactérias pesquisadas pela aplicação de cálculos de probabilidade (CETESB, 2018, p. 13).

Os tubos utilizados nessa etapa já continham 9 ml do meio de cultura Lauril Sulfato Triptose (LST), em dupla concentração, que, através da lactose presente em sua formulação, favorece a fermentação dos microrganismos. Logo após, com auxílio de pipetas automáticas, foi adicionada a água bruta, que foi retirada da refrigeração 15 min antes do início do procedimento e homogeneizada, devido à possibilidade de decantação de sedimentos.

Em seguida, levou-se os tubos para a incubadora, onde permaneceram por 48 h, a uma temperatura de 35 °C. Decorrido o tempo de incubação, verificou-se os seguintes critérios obrigatórios: fermentação e turvação, que conforme Cetesb (2018), são “prova presuntiva positiva para a presença de bactérias do grupo coliforme” (CETESB, 2018, p. 13).

A seguir, as amostras positivadas foram transferidas, através da técnica de repicagem, para tubos que continham dois caldos: caldo Bile Verde Brilhante (BVB) para etapa confirmativa de coliformes totais e caldo de *Escherichia Coli* (EC para etapa confirmativa de coliformes termotolerantes, devidamente identificados conforme a série que deu origem.



A transferência deu-se através de sementeira do material contido em cada amostra positivada, por alça de incubação, devidamente esterilizada por flambagem (bico de Bunsen), repetida a cada sementeira para garantir a assepsia da técnica.

As amostras que continham o caldo BVB, foram incubadas por 48 h, à temperatura de 35 °C. Já para amostras que continham o caldo EC, o tempo de incubação foi de 24 a 48 h à 45°C. Após a incubação, tanto no caldo BVB, quanto no EC, verificou-se a presença de gás e turvação, conforme os mesmos critérios obrigatórios utilizados na etapa anterior.

Os resultados positivos obtidos em meio de cultura BVB, foram agrupados conforme série de origem e comparados com a tabela do Número Mais Provável (NMP), que é usada para estimar o número de microrganismos presentes na amostra por ml (limite inferior e superior), a partir de combinações dos testes positivos obtidos nas testagens.

Já a amostra que positivou na etapa confirmativa para EC, foi novamente analisada para realizar a diferenciação de coliformes termotolerantes ou *E. coli*, através da técnica de esgotamento por estrias. Nessa técnica foi utilizado placa de Petri e o meio de cultura Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), que propicia o crescimento diferencial da EC. A isso, foi adicionada com auxílio da alça de incubação flambada, uma amostra do tubo que positivou na etapa anterior. A seguir, a placa de Petri foi levada à estufa e colocada para incubar na posição invertida por 24 h a temperatura de 35 °C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na etapa presuntiva, teve-se o seguinte resultado positivado para os critérios analisados: série 1: 4 tubos, série 2: 3 tubos e série 3: 2 tubos. Como essa etapa é presuntiva para a presença de coliformes, partiu-se para a execução da etapa confirmativa. De acordo com Cetesb (2018) “Esta etapa do exame reduz a possibilidade de ocorrência de resultados falsos-positivos, decorrentes da atividade de bactérias esporuladas e de bactérias Gram-positivas fermentadoras da lactose” (CETESB, 2018, p. 14).

Esses 9 tubos resultantes foram analisados na etapa confirmativa, em meio de cultura BVB que apresentou a produção de gás em 5 tubos, distribuídos da seguinte forma: as séries 1 e 2 apresentaram 2 resultados positivos cada e a série 3 apenas 1 resultado positivo. Isso indica a presença de coliformes totais nessa amostra de água de poço de captação, como menciona Cetesb (2018), ao mencionar que “A produção de gás a partir da fermentação da lactose neste meio é prova confirmativa positiva para a presença de bactérias do grupo coliforme” (CETESB, 2018, p. 14).



A combinação de resultados 2, 2, 1, quando comparada com os valores listados na tabela de NMP, que expressa o “Índice de NMP e limites de confiança de 95%, quando são utilizados inóculos de 10 mL, 1 mL e 0,1 mL em séries de 5 tubos” (CETESB, 2018, p. 22), apresenta os limites inferior de 4,1 e superior de 26. Isso indica que a amostra de água bruta, coletada em poço de captação semiartesiano, está contaminada por coliformes totais.

Da análise das amostras em meio de caldo EC, apenas um tubo, da série 1, apresentou presença de gás e turvação, o que confirma a presença de coliformes termotolerantes, como afirma Cetesb (2018), quando menciona que “O resultado para coliformes termotolerantes será positivo quando houver produção de gás a partir da fermentação da lactose contida no meio EC” (CETESB, 2018, p. 14).

Finalizando essa etapa de análises, verificou-se a partir da única amostra repicada em caldo EC, utilizando a técnica de esgotamento em estrias, que os coliformes termotolerantes presentes na amostra, não se tratavam de *Escherichia coli* que é de origem exclusivamente fecal. Houve apenas formação de colônias da bactéria *Klebsiella*, pertencente à família *Enterobacteriaceae*.

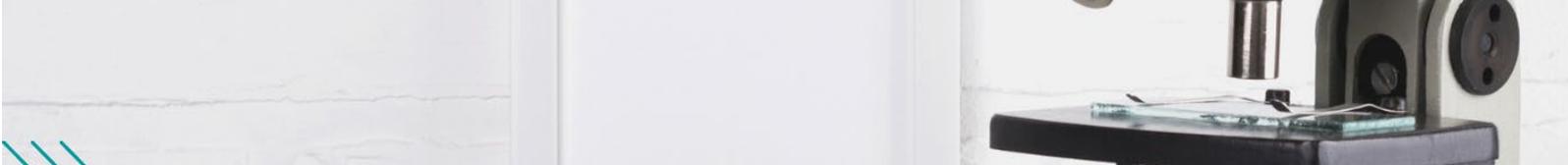
CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo teve como escopo a avaliação da qualidade da água de poço de captação semiartesiano, consumida pelos moradores de comunidade da zona rural do município de Medianeira, oeste do Paraná.

Sabe-se que o principal uso da água de poços na zona rural é para fins de abastecimento humano. Condições como a irregularidade do monitoramento, a falta de tratamento dessa água distribuída e a presença de possíveis fontes de contaminação, pode representar uma situação de risco epidemiológico para essa população.

De acordo com os resultados encontrados, pode afirmar-se que a quantidade de coliformes totais e tolerantes (fecais) indicam contaminação microbiológica na água analisada. Deste modo, estas águas encontram-se impróprias para o consumo humano, fazendo-se necessária uma desinfecção com cloro, minimizando os riscos à saúde dessa população.

Considera-se ainda que a maioria das substâncias nocivas encontradas no local não pode ser retirada por tratamentos domiciliares, como a desinfecção com cloro, que apenas minimizaria os riscos à saúde dessa população, mesmo que devida e constantemente aplicados. Isso indica que a única solução para oferta de água de qualidade a essa população encontra-se no fornecimento emergencial de água encanada e tratada, captada de um manancial seguro, o



que deve ser atribuição do gestor público responsável pelo enfrentamento de questões de saúde coletiva, entre outras.

Conclui-se que há a necessidade de ofertar água em quantidade e qualidade apropriadas para abastecimento da população rural em questão. Além disso, constatou-se que a solução deve ir além do provimento do abastecimento de água, sendo necessário o constante emprego de métodos educativos para que os moradores da zona rural compreendam a importância do consumo da água tratada, bem como os possíveis agravos ligados a esse recurso hídrico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, Luiz Augusto do et al. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. **Revista de Saúde Pública**. V. 37, n. 4, p. 510-514, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0034-89102003000400017> . Acesso em 15 Jul 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. Diretriz para atuação em situações de surtos de doenças e agravos de veiculação hídrica. Brasília, 2018. Disponível em:

https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_agravos_veiculacao_hidrica.pdf. Acesso em 15 Jul 2021.

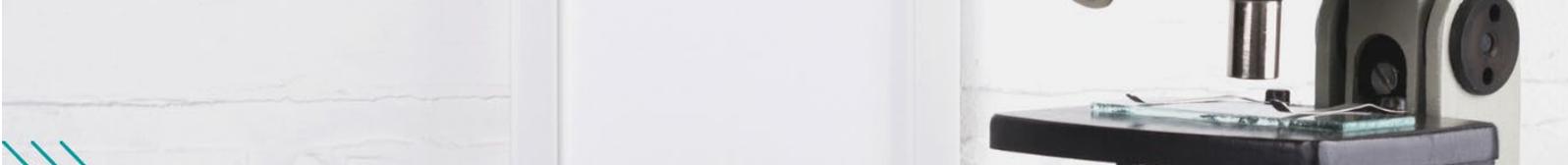
_____. Portaria da Consolidação Nº 5 de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Ministério da Saúde. **DOU**. Brasília, 2017. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/marco/29/PRC-5-Portaria-de-Consolida---o-n---5--de-28-de-setembro-de-2017.pdf>. Acesso em 15 Jul 2021.

CETESB. Norma Técnica L5.202: Coliformes totais, coliformes termotolerantes e Escherichia coli. Determinação pela técnica de tubos múltiplos. 5 ed., 29 p. São Paulo: 2018. Disponível em: https://cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/2018/01/Para-enviar-ao-PCSM_-NTC-L5.202_5%C2%AAed-dez.-2018.pdf. Acesso em 15 Jul 2021.

HOFSTÄTTER, Kéli. **A caracterização da qualidade da água em poços rasos de consumo humano no município de Erval Seco/RS**. 2021. 64 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Ambiental e Sanitária). Universidade Federal de Santa Maria, Frederico Westphalen, 2021. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/20396/Hofstatter_Keli_2021_TCC.pdf?sequenc e=1&isAllowed=y. Acesso em 16 Jul 2021.

IBGE. Panorama cidades: Medianeira/Paraná. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/medianeira/panorama>. Acesso em 15 Jul 2021.

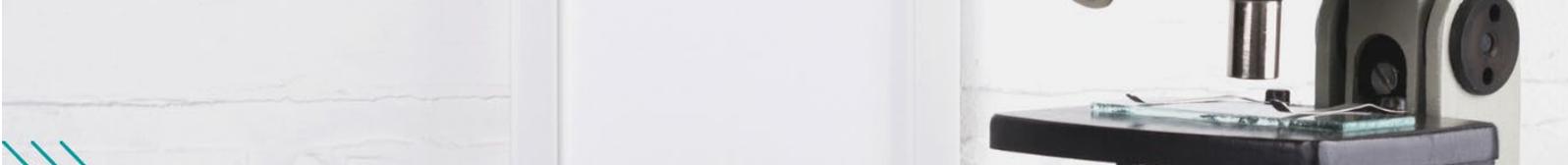
MUNICÍPIOS e saneamento. Medianeira (PR). Instituto Água e Saneamento (IAS). São Paulo. Disponível em: <https://www.aguaesaneamento.org.br/municipios-e-saneamento/pr/medianeira>. Acesso em 15 Jul 2021.



MEDIANEIRA. Prefeitura Municipal de Medianeira. Dados e Localização. Medianeira: [201-?] Disponível em: <https://www.medianeira.pr.gov.br/?dados>. Acesso em 15 Jul 2021.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DASAÚDE. Relatório mundial de saúde, 2006: trabalhando juntos pela saúde. Conferência Internacional sobre Cuidados Primários de Saúde. Brasília, DF: Ministério da Saúde/OMS, 2007, 210 p. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/marco/29/PRC-5-Portaria-de-Consolida----o-n---5--de-28-de-setembro-de-2017.pdf>. Acesso em 15 Jul 2021.

SALING, Caroline et al. Avaliação da qualidade da água de poços rasos no Município de Colinas – RS. **Revista Tecno-Lógica**. V. 21, n. 2, p. 59-64, jul/dez. 2017. Santa Cruz do Sul, 2017. Disponível em: <https://online.unisc.br/seer/index.php/tecnologica/article/view/7901/6084>. Acesso em 15 Jul 2021.



CAPÍTULO 5

A IMPORTÂNCIA DO SANEAMENTO BÁSICO NA PREVENÇÃO DE ENTEROPARASIToses EM COMUNIDADES RIBEIRINHAS

Ana Flávia Lopes Pereira
Dihele Emanuele Azevedo De Araújo Martins
Ester Pacheco Braga
Luysla da Conceição Carvalho Morais Sousa
Jethânia Glasses Cutrim Furtado Ferreira
Silvio Carvalho Marinho
Marcos Roberto Campos de Macêdo

RESUMO

Introdução: As parasitoses intestinais simbolizam em muitas regiões um problema de grande importância social pela constância com que ocorrem, principalmente por provocar incapacidade nas pessoas acometidas, refletindo de forma negativa no desenvolvimento físico e cognitivo do indivíduo. **Objetivo:** Descrever a importância do saneamento básico para a prevenção enteroparasitoses em comunidades ribeirinhas. **Material e Métodos:** Foram selecionados 63 artigos relevantes ao tema publicados no período de 2020, analisados através de leitura seletiva, crítica e interpretativa das informações apresentadas. A coleta de dados foi realizada a partir de artigos científicos nas bases de dados google acadêmico, com os seguintes descritores: parasitologia, saneamento básico, comunidades ribeirinhas. **Resultados:** As altas taxas de predomínio de enteroparasitoses intestinais em comunidades ribeirinhas, indicam a precariedade das condições de saneamento básico às quais essas comunidades estão submetidas, que ligada ao baixo poder econômico e baixa escolaridade, favorecem para o cenário de caos instalado na saúde e na dignidade dessas populações. **Conclusão:** Os dados alcançados neste estudo constataam que as condições de saneamento básico e moradia estão intimamente relacionadas à prevalência de parasitoses intestinais, caracterizando um problema de difícil solução, uma vez que haja a dependência de correta execução de políticas públicas que visem a redução da desigualdade.

PALAVRAS-CHAVE: Enteroparasitoses. Comunidades Ribeirinhas. Saneamento Básico.

INTRODUÇÃO

As parasitoses intestinais simbolizam em muitas regiões um problema de grande importância social pela constância com que ocorrem, principalmente por provocar incapacidade nas pessoas acometidas, refletindo de forma negativa no desenvolvimento físico e cognitivo do indivíduo (SENA, 2020).

Dentro desse contexto, os parasitas são capazes de crescer e evoluir de forma assintomática ou provocar diversas manifestações clínicas no organismo hospedeiro. A forma assintomática é o quadro mais recorrente dessas infecções, o que torna esses indivíduos importantes disseminadores de parasitas. Os principais fatores relacionados a ocorrência dessas



infecções são o nível socioeconômico, a infraestrutura das moradias que são extremamente precárias, ausência de saneamento básico e a falta de conhecimento dos hábitos básicos de higiene (MERGULHÃO, 2020).

Em média, um terço da população brasileira está submetida a frequentes parasitoses intestinais devido à fatores climáticos como a umidade, altas temperaturas e precipitação das chuvas, tal como a desigualdade das situações socioeconômicas. Estas infecções se manifestam em todas as regiões, aparecendo principalmente nas zonas rurais e subúrbios de centros urbanos, lugares onde a ausência de saneamento básico e pouco conhecimento sobre transmissão e prevenção está presente (MERGULHÃO, 2020).

As circunstâncias de custos, sejam para moradia, saneamento básico, ou meios de conseguir seu próprio sustento, também auxiliam na propagação exponencial dos enteroparasitos dessa população, que sobrevivem com pouco que se encontra ao seu alcance. Nesse cenário, a água e os alimentos obtidos através de locais impróprios para consumo elevam o índice de contaminação entre crianças e adultos, aumentando o risco a reinfecções dos mesmos (SENA, 2020).

As enteroparasitoses e seus males associados são comuns entre comunidades ribeirinhas e rurais, áreas desfavorecidas em relação à renda familiar e saneamento básico. Esses fatores influenciam diretamente para que estas infecções sejam ainda mais contundentes entre as comunidades ribeirinhas, principalmente entre menores de até 5 anos, idosos e mulheres gestantes, período em que a anemia e desnutrição tendem a gerar maiores sequelas (MENESES, 2020).

A falta de saneamento é um problema normalmente referido no Brasil e colabora para o aparecimento de morbidades e até mesmo aumento do número de óbitos do nosso país, principalmente com doenças associadas à pobreza como as enteroparasitoses (PAIVA; SOUZA, 2018).

Essas comunidades são carentes de recursos básicos, sendo a precariedade de desenvolvimento dessas áreas, muita das vezes está relacionada ao difícil acesso, que acaba por resultar no isolamento dessas populações. Em razão dessas dificuldades, profissionais dispostos a trabalhar nessas áreas são escassos, o que torna insuficiente as referências sobre o tema (SENA, 2020).

Dentro desse contexto, o objetivo do presente estudo é descrever a importância do saneamento básico para a prevenção enteroparasitoses em comunidades ribeirinhas.

MATERIAIS E MÉTODOS

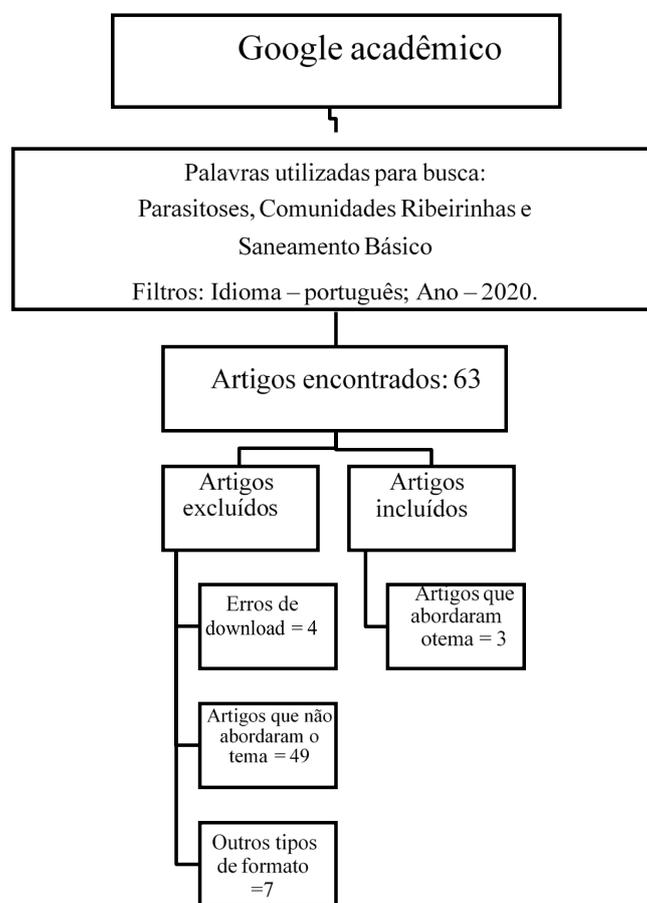
O presente estudo trata-se de uma revisão de literatura de caráter transversal com abordagem descritiva, que visa descrever a importância do saneamento básico na prevenção de enteroparasitoses em comunidades ribeirinhas.

Foram selecionados 63 artigos relevantes ao tema publicados no período de 2020, analisados através de leitura seletiva, crítica e interpretativa das informações apresentadas. A coleta de dados foi realizada a partir de artigos científicos nas bases de dados google acadêmico, com os seguintes descritores: parasitologia, saneamento básico, comunidades ribeirinhas.

Foram estabelecidos como critérios de inclusão as publicações do ano de 2020, artigos publicados no idioma português, trabalhos que abordem o tema proposto. Quanto aos critérios de exclusão, foram excluídos trabalhos de revisão de literatura, publicações em idioma inglês, estudos publicados fora do período estipulado, artigos que tiveram erro no download, artigos incompletos e artigos distantes do tema proposto.

A Figura 1 mostra o fluxograma para seleção dos estudos incluídos nessa revisão.

Figura 1- Fluxograma da revisão de literatura



Fonte: Os autores, 2021.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados 63 artigos no google acadêmico dentro do recorte temporal (2020). Após a leitura e seleção, 03 artigos foram elegíveis, pois tratavam do tema saneamento básico, enteroparasitoses e comunidades ribeirinhas, que constituíram a base para discussão, conforme apresentado no Quadro 1.

Quadro 1: Quadro descritivo dos estudos de prevalência das enteroparasitoses em comunidades ribeirinhas.

| Número | Autor | Amostra | Metodologia utilizada | Principais resultados | Conclusão dos autores |
|--------|---------------------------------|---|----------------------------|--|--|
| 1 | SENA <i>et al.</i> , 2020. | Amostras fecais de pessoas de ambos os sexos com idade de 2 a 75 anos (Brasil) | Quantitativo e transversal | Ao avaliar as condições de moradia e saneamento desta população, foi possível observar que todas as instalações sanitárias estavam situadas foradas moradias. | A prevalência de enteroparasitoses nos indivíduos foi de 95,1%, havendo predomínio dos parasitos: <i>Ascaris lumbricoides</i> , <i>Entamoeba histolytica/dispar</i> e <i>Enterobius vermiculares</i> . |
| 2 | MENEZES <i>et al.</i> , 2020 | Coleta de dados | Transversal | Os resultados demonstraram uma positividade parasitária de 95,6% (130/136), tendo o poliparasitismo 59,6% (81/136) prevalecendo frente ao monoparasitismo 36% (49/136). Para protozoários a prevalência observada foi de 89% (121/136), e para helmintos de 6,6% (09/136). | Com base nos resultados, há uma elevada prevalência de parasitoses intestinais humanas na comunidade estudada, além de alta prevalência de crianças anêmicas e abaixo do peso. |
| 3 | MERGULHÃO, <i>et al.</i> , 2020 | Amostras fecais de indivíduos com faixa etária entre dois e setenta anos, moradores do município de Pilar, Al | Quantitativo | Das amostras analisadas, 87,85% encontravam-se positivas para alguma espécie de parasito, constituindo um índice bastante elevado que pode ser resultado das condições precárias de higiene em que a população está inserida. | O consumo de água sem tratamento, a falta de higiene, os problemas sanitários e a deficiência de educação em saúde contribuem fortemente para a persistência dos parasitos intestinais na região. |

Fonte: Os autores, 2021.

As parasitoses intestinais são infecções causadas por protozoários e por helmintos, tais agentes etiológicos apresentam ciclos evolutivos que contêm períodos de parasitoses humanas. As enteroparasitoses consistem em um preocupante problema de saúde pública, ocasionando uma grave questão de saúde pública mundial (MELO, 2015).



Os dados epidemiológicos das enteroparasitoses são sempre muito oscilantes, geralmente potencializados pela carência da rede de saneamento básico e abastecimento de água potável. O cenário de parasitas intestinais possui sempre grande relevância para a saúde pública, principalmente quando os agentes envolvidos são de comunidades isoladas, onde o acesso a saúde e saneamento básico são quase inexistentes (MENEZES, 2020).

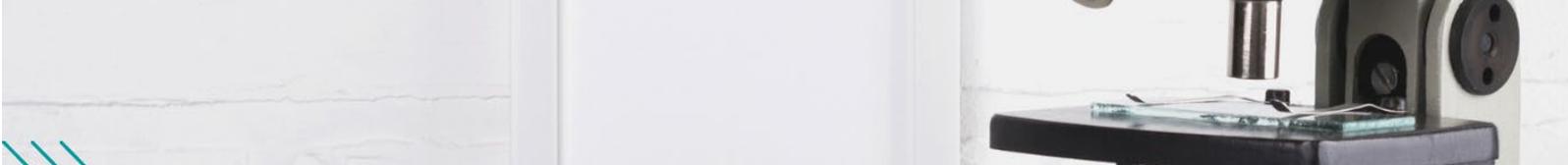
As altas taxas de predomínio de enteroparasitoses intestinais em comunidades ribeirinhas, indicam a precariedade das condições de saneamento básico às quais essas comunidades estão submetidas, que ligada ao baixo poder econômico e baixa escolaridade, favorecem para o cenário de caos instalado na saúde e na dignidade dessas populações (MENEZES, 2020).

Segundo Sena et al, (2020), os principais fatores que favorecem a transmissão de enteroparasitoses estão na frequência em que esses indivíduos apresentam essas enteroparasitoses e o meio em que eles se encontram, pois o quantitativo regular de reinfecções pode facilitar a ocorrência de outras patologias associadas a esses parasitas. Contudo, Mergulhão (2020) infere que os fatores ambientais influenciam diretamente, dando continuidade ao ciclo de reinfecção de enteroparasitos.

Nesse contexto, a ingestão de água sem tratamento, a falta de higiene, as falhas sanitárias e o déficit em educação em saúde colaboram vigorosamente para a persistência dos parasitos intestinais nessas áreas ribeirinhas. Os consumidores de água fervida ou filtrada apresentaram menor prevalência de contaminação por enteroparasitos. Portanto, sugere-se uma relação de associação importante entre os parasitos intestinais e a ingestão de água contaminada por cistos e/ou ovos, ou, ainda, a água deficientemente tratada (MERGULHÃO, 2020).

A existência dessa deficiência sanitária dos grupos minoritários brasileiros pode ser fruto de oposições políticas e uma má administração de recursos financeiros. Desse modo, o cidadão que vive em grupos desfavorecidos acaba vivendo em condições precárias de vida, onde não há serviço público para tratamento de água e de condições apropriadas de higiene (ANDRADE, 2011).

Os ribeirinhos enfrentam complicações relacionados a instabilidade de ações de políticas públicas, incluído a falta de acesso aos serviços públicos essenciais, como a saúde. Esses povos vivenciam a falta de equidade, que está ligado a deficiências maiores nas prestações de serviços, contribuindo para uma cobertura de saúde limitada, um dos fatores para



essa carência é a representação da ineficácia das políticas sanitárias nessas regiões. (BÔAS, 2016).

É necessário o comprometimento governamental para implantação, desenvolvimento e sucesso dos programas de controle das parasitoses, bem como a conscientização populacional sobre os riscos de transmissão das enteroparasitoses, aliado ao monitoramento médico dos indivíduos parasitados e que estão em risco de contaminação e acompanhamento mais próximo da introdução de terapia medicamentosa aos pacientes confirmados (SENA, 2020; MERGULHÃO, 2020).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados alcançados neste estudo constataam que as condições de saneamento básico e moradia estão intimamente relacionadas à prevalência de parasitoses intestinais, caracterizando um problema de difícil solução, uma vez que haja a dependência de correta execução de políticas públicas que visem a redução da desigualdade.

Vale ressaltar a fundamental importância de inserção de políticas públicas voltadas à educação em saúde, bem como a ação agentes sociais para desenvolvimento desses projetos, pode auxiliar na redução da prevalência de enteroparasitoses.

Adicionalmente, o abastecimento de água potável para essas comunidades, melhores condições de moradia, acesso aos serviços de saúde, noções básicas em higiene como a manipulação da água e alimentos, corte de unhas e lavagem das mãos são meios fundamentais de prevenção e redução da prevalência das enteroparasitoses nas comunidades ribeirinhas.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, E.C.D.; LEITE, I.C.G.; VIEIRA, M.D.T.; ABRAMO, C.; TIBIRIÇÁ, S.H.C.; SILVA, P.L. Prevalência de parasitoses intestinais em comunidade quilombola no Município de Bias Fortes, Estado de Minas Gerais, Brasil, 2008. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Vol. 20, Num. 3, p. 337-344, 2011.

BÔAS, L.; OLIVEIRA, D. A saúde nas comunidades ribeirinhas norte brasileira. **Atas CIAIQ – Investigação qualitativa em Saúde**, Vol. 2, 2016.

MELO, A.R.; ERICEIRA, F.V.; OLIVEIRA, N.D.; ROCHA, J.R.; FIRMO, W.C.A. Ocorrência de parasitos intestinais em laudos parasitológicos de fezes de um laboratório privado do município de Bacabal-Ma. **Enciclopédia Biosfera**, Vol. 11, Num. 21, p. 3420, 2015.

JÚNIOR, R.C.M.; JUNIOR, C.A.A.L.; MARINHO, I.G.; BRAGA, K.H.M.; NASCIMENTO, R.O.; CALANDRINI, T.S.S.; MELO, D.P.S.; SACRAMENTO, B.P.; ANDRADE, R.F.;



MENEZES, R.A.O. Enteroparasitoses, anemia e estado nutricional de uma população ribeirinha no estado do Amapá. **REAS/EJCH**, Vol.12, Num. 5, 2020.

MERGULHÃO, N.L.O.N.; SANTOS, A.C.M.; SANTOS, S.S.G.S.; SILVA, E.M.G.; JÚNIOR, M.C.F.L.; COUTO, J.L.A. Ocorrência de enteroparasitoses em moradores de um povoado na zona periurbana do município de Pilar (Alagoas, Brasil). **Braz. J. of Develop**, Vol. 6, Num. 12, p. 96255-96266, 2020.

PAIVA, R.F.P.S.; SOUZA, M.F.P. Associação entre condições socioeconômicas, sanitárias e de atenção básica e a morbidade hospitalar por doenças de veiculação hídrica no Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Vol. 34, Num. 1, e00017316, 2018.

SENA, L.W.P.; PANTOJA, C.S.C.; SOUZA, D.A.S.; PALHETA, S.S.R.; MELLO, A.G.N.C.; VIEIRA, J.L.F., ARRUDA, J.E.G.; MOREIRA, M.P. Prevalência de enteroparasitose em comunidade ribeirinha do estado do Pará, Brasil. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, Vol. 12, Num. 2, 2020.

CAPÍTULO 6

USO DE MARCADORES MOLECULARES E ALTERAÇÕES NO CICLO CELULAR PARA INVESTIGAR A TOXICIDADE DO EXTRATO AQUOSO FOLIAR DE *MYRSINE CORIACEA* (SW.) R.BR. EX ROEM. & SCHULT (PRIMULACEAE)

Thammyres de Assis Alves
Marina Santos Carvalho
Thayllon de Assis Alves
Aldino Neto Venancio
Marcia Flores da Silva Ferreira¹
Tatiana Tavares Carrijo
Luciano Menini
Milene Miranda Praça-Fontes

RESUMO

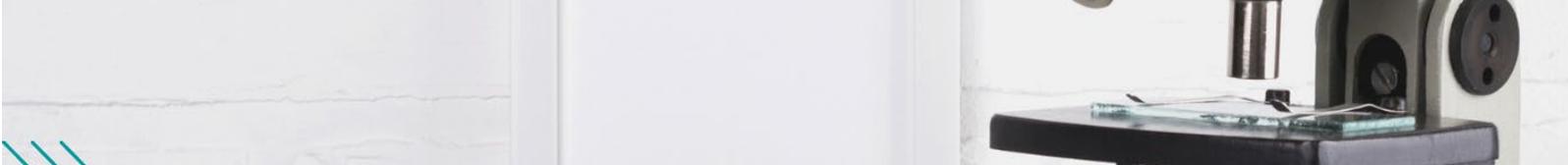
Myrsine coriacea é uma espécie que se destaca pelo uso na culinária bem como na medicina popular. Além disso, apresenta compostos do metabolismo secundário que podem ser utilizados em estudos alelopáticos, visando indicar novas espécies para a produção de fármacos e bioherbicidas ambientalmente amigáveis. Objetivou-se com o trabalho prospectar os efeitos fitotóxicos de *M. coriacea* observados na germinação e desenvolvimento inicial de sementes das espécies modelos *Lactuca sativa* (eudicotiledônea) e *Sorghum bicolor* (monocotiledônea) e os efeitos cito-geno-tóxicos observados nas células meristemáticas. Para isso, ensaios biológicos de fito-cito-geno-toxicidade foram realizados com extrato aquoso de folhas, nas concentrações de 100, 50, 25 e 12,5mg/mL. A água foi utilizada como controle negativo. *Lactuca sativa* mostrou-se mais sensível ao ensaio de fitotoxicidade, sofrendo inibição das variáveis em todas as concentrações do extrato. *Sorghum bicolor* demonstrou maior sensibilidade no ensaio de genotoxicidade, realizado com marcadores ISSR, onde todos os tratamentos se diferenciaram do controle. O tratamento mais citotóxico foi o de 25mg mL⁻¹. Tal resultado corrobora o encontrado no ensaio de genotoxicidade, onde a dissimilaridade demonstrou que o tratamento de 25mg/mL foi o mais distante do controle em *S. bicolor* e o segundo mais distante em *L. sativa*. Os diferentes ensaios se complementaram e evidenciaram o efeito alelopático do extrato aquoso das folhas de *M. coriacea*, auxiliando no entendimento do mecanismo de ação clastogênico e aneugênico.

PALAVRAS-CHAVE: Espécies condimentares; Genotoxicidade; *Lactuca sativa*; Fitotoxicidade; *Sorghum bicolor*.

INTRODUÇÃO

Os organismos em um mesmo ambiente podem interagir por meio da alelopatia, que se refere ao efeito exercido por uma planta sobre outra, ou sobre microrganismos. Essa interação

¹ Financiadores do trabalho: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).



é direcionada pela liberação de aleloquímicos no ambiente que promovem alteração no desenvolvimento desses organismos (Rice 1984). A alelopatia pode ser positiva, quando auxilia no desenvolvimento do indivíduo ao entrar em contato com o composto químico liberado ou negativa, quando o aleloquímico liberado inibe o desenvolvimento do outro organismo. Apesar do efeito positivo, o termo alelopatia tem sido mais relacionado aos efeitos negativos (Silva et al. 2006).

Os aleloquímicos são moléculas provenientes do metabolismo secundário das plantas como os alcaloides, fenóis e terpenos, produzidos naturalmente em pequenas quantidades e variando de acordo com as condições ambientais, como clima e solo, e com condições intrínsecas da planta, como idade (Pinheiro et al. 2015). Esses produtos naturais com atividades biológicas são recursos potenciais para aplicação na preparação de agroquímicos e fármacos, em virtude da presença de suas moléculas químicas (Macías et al. 2008). Dessa maneira, os estudos que buscam soluções mais amigáveis ao meio ambiente vêm ganhando maior importância (Aragão et al. 2015, Pinheiro et al. 2015, Alves et al. 2018).

Uma vez que as plantas de regiões tropicais apresentam de três a quatro vezes mais compostos químicos do que as plantas de regiões temperadas (Rodriguez e West 1995), estudos sobre a atividade biológica de plantas daquelas regiões se mostram relevantes para a descoberta de novos produtos naturais bioativos, principalmente plantas com aplicações na alimentação humana como condimentos e temperos, bem como, na medicina popular. Há vários relatos de compostos químicos com potencial bioativo isolados de espécies pertencentes ao gênero *Myrsine*, por exemplo, nativo do Brasil. Dentre esses compostos químicos estão o ácido benzoico (Januário et al. 1991), triterpenóides (Januário et al. 1992), flavonoides (Zhong et al, 1997), hidroquinonas (Zhong et al. 1998), glicosídeos (Zhong et al. 1999) e benzoquinonas, que segundo Midiwo et al. (2002) apresentam atividade antimicrobiana, acaricida, nematicida, inseticida e fitotóxica.

Myrsine coriacea (Sw.) R.Br. ex Roem. & Schult. pertence à família Primulaceae e ao gênero *Myrsine* (Burger et al. 2015), tendo como sinônimo *Rapanea ferruginea* (Ruiz & Pav.) Mez (Cruz et al. 2013). Com ocorrência muito frequente em florestas pluviais da encosta atlântica, é uma planta de porte arbóreo, perenifólia, com florescimento duas vezes ao ano (Lorenzi 1992). Seus frutos são pequenos (3-5 mm de diâmetro) e globosos, apresentando coloração negro-arroxeadado quando maduro (Pascotto 2007). Os frutos de *M. coriacea* são utilizados na alimentação humana como condimento, para alimentação da fauna silvestre, além disso, essa planta vem sendo utilizada em paisagismos, na produção de carvão, em construções



civis, e para restauração ambiental em reflorestamentos (Cruz et al. 2013). Na medicina popular o chá de suas folhas e a decocção da casca são usados para o tratamento de diversas doenças, tais como, infecções das vias urinárias, urticárias, eczemas, problemas no fígado e reumatismo, além de apresentar ação depurativa (Cruz et al. 2013).

Para avaliar a ação dos fitoquímicos sobre as plantas, testes com modelos vegetais como *Lactuca sativa* L. (eudicotiledônia) e *Sorghum bicolor* (L.) Moench (monocotiledônia) são utilizados (Pinheiro et al. 2015, Alves et al. 2018, Vasconcelos et al. 2021). O *S. bicolor* apresenta desenvolvimento inicial rápido, tendo 90% de germinação em 24h (Alves et al. 2018) e *L. sativa* apresenta vantagens como: crescimento rápido, baixo custo, cromossomos grandes, além de ser sensível aos metabólitos secundários (Andrade-Vieira et al. 2014).

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito fitotóxico de diferentes concentrações do extrato aquoso foliar de *M. coriacea* por meio de avaliações de germinação e desenvolvimento inicial das plântulas de *L. sativa* e *S. bicolor*, bem como os efeitos citotóxicos, por meio de alterações cromossômicas e nucleares em *L. sativa* e efeitos genotóxicos e mutagênicos por meio de alterações genômicas, aplicando marcadores moleculares *Inter-Simple Sequence Repeat* (ISSR) em raízes tratadas de *L. sativa* e *S. bicolor*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material biológico

Folhas adultas de *Myrsine coriacea* provenientes de diferentes indivíduos em uma remanescente de Floresta Atlântica localizado no Município de Castelo, ES, foram coletadas e utilizadas para obtenção do extrato aquoso foliar (agente teste). *Myrsine coriacea* é uma espécie de hábito arbóreo ou arbustivo, apresentando variação de 1,5 a 15 m de altura. Possui ramos candelabriformes característicos, com folhas alternadas e sem estípulas, variando em tamanho, e geralmente, possuem lâminas foliares lanceoladas. Suas flores são pentâmeras, desenvolvendo-se como inflorescências glomeriformes e ramifloras (v. Carrijo et al. 2017).

Sementes comerciais de *Sorghum bicolor* ‘Moench’ (BR seeds) e *Lactuca sativa* ‘Mônica’ (Feltrin) foram utilizadas como modelo vegetal nos bioensaios para avaliar a fitotoxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade do agente teste.



Triagem fitoquímica para determinação das principais classes de metabólitos secundários presentes no extrato aquoso foliar

A caracterização química do extrato aquoso foliar para determinação por presença e ausência das principais classes de metabólitos secundários foi realizada como descrito por Matos (2009), identificando fenóis, taninos, antocianinas, antocianidinas, leucoantocianidinas, flavonas, flavonois, flavanonois, xantonas, chalconas, auronas, catequinas, esteroides, triterpenoides, saponinas, ácidos fixos fortes e resinas.

Extrato aquoso aplicado nos bioensaios vegetais

As folhas coletadas foram liofilizadas por 48h e em seguida maceradas. Pesou-se 30g de folhas trituradas, as quais foram colocadas em 300mL de água destilada aquecida à 80-90°C. Após descanso de 10 minutos, o extrato foi filtrado e o primeiro concentrado de 100mg/mL foi obtido (Almeida et al. 2006), a partir do qual foram feitas as diluições para obter os extratos aquosos com concentração de 50mg/mL, 25mg/mL e 12,5mg/mL. A água destilada foi utilizada como controle negativo.

Ensaio biológicos

O experimento de germinação e crescimento inicial das sementes seguiu a metodologia descrita por Aragão et al. (2015). Avaliou-se a porcentagem de germinação (%G), o índice de velocidade de germinação (IVG), o crescimento radicular (CR) e o crescimento aéreo (CA).

Para a avaliação microscópica foram confeccionadas lâminas com células meristemáticas radiculares. Apenas raízes de alface foram utilizadas por serem consideradas um modelo adequado para análise microscópica (análise citotóxica) para testar o efeito tóxico de compostos químicos (Silveira et al. 2017). Além disso, demonstrou ter alta atividade proliferativa, crescimento rápido, grande número de sementes, grandes cromossomos, alta sensibilidade a compostos mutagênicos e genotóxicos e raízes fáceis de manipular (Andrade-Vieira et al. 2014, Aragão et al. 2017). A coleta de raiz de *L. sativa* e preparo das lâminas para análises microscópicas seguiu a metodologia descrita por Pinheiro et al. (2015). As variáveis analisadas foram: índice mitótico (IM), alterações cromossômicas (AC), alterações nucleares (AN), além das frequências de: micronúcleo, cromossomo aderente, pontes cromossômicas, células poliploides, c-metáfases e perda cromossômica.

A análise molecular para avaliar a genotoxicidade e mutagenicidade do extrato aquoso de *M. coriacea* foi realizado usando marcadores ISSR, sendo necessário para tal análise a montagem de um novo experimento, com o delineamento experimental composto por cinco

repetições (com 100 sementes em cada) para cada tratamento e para cada modelo vegetal (*L. sativa* e *S. bicolor*).

As sementes que germinaram nos diferentes tratamentos tiveram suas raízes excisadas. A extração do DNA foi feita segundo o método CTAB (Brometo de cetil-trimetil amônio) (Doyle e Doyle, 1990). A integridade do DNA genômico foi verificada utilizando gel de agarose 0,8% corado com brometo de etídeo (10mg mL) e a quantidade e qualidade foram determinadas com o uso de espectrofotômetro (*nanoDrop 2000*).

Nas amplificações com ISSR, foram utilizados os primers University of British Columbia (UBC) para alface: 809, 810, 827, 808, 834, 840, 807, 861, 836 (Tabela 1) e para sorgo: 836, 810, 809, 808, 814, 834 (Tabela 1). A PCR foi realizada em um volume de 13µL contendo 20ng de DNA, 0,2mM de cada dNTP, 1X de tampão de PCR (100mM Tris- HCl, 500mM KCl, 1% de triton X-100, 1,5mM MgCl₂ pH 8,3), 0,5mM do iniciador e 0,65 unidade da enzima Taq DNA Polimerase. O programa utilizado para a PCR foi: 94°C por 5 minutos; 40 ciclos compostos por 94°C por 2 minutos, 55°C (temperatura de anelamento) por um minuto; 72°C por 10 minutos; e uma extensão final de 72°C por 7 minutos. Os produtos amplificados foram separados em gel de agarose 1,5%, tampão TBE 1X (Tris-ácido Bórico-ETDA), corados com brometo de etídeo (10mg mL). Posteriormente os géis foram fotodocumentados sob luz UV e comparados com marcador de 100pb.

Tabela 1. Iniciadores ISSR utilizados para amplificação, com sequência e número de fragmentos.

| Primer | Sequência (5'-3') | Número total de fragmentos polimórficos | |
|---------|-------------------|---|-------|
| | | Alface | Sorgo |
| UBC 807 | (AG)8-T | 4 | - |
| UBC 808 | (AG)8-C | 6 | 10 |
| UBC 809 | (AG)8-G | 5 | 5 |
| UBC 810 | (GA)8-T | 6 | 6 |
| UBC 814 | (CT)8-A | - | 3 |
| UBC 827 | (AC)8-G | 7 | - |
| UBC 834 | (AG)8-YT | 8 | 6 |
| UBC 836 | (AG)8-YA | 7 | 6 |
| UBC 840 | (GA)8-YT | 2 | - |
| UBC 859 | (TG)8-RC | 3 | - |
| UBC 861 | (ACC)6 | 8 | - |

Y = (C, T); R = (A, G)

Fonte: os autores

Análise estatística

Os dados acessados com as análises macroscópicas (GP, GSI, RG and AG) e os microscópicos (IM, AC e AN) foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias obtidas comparadas pelo teste de Dunnett ($p < 0.05$), teste escolhido por ser mais indicado para experimentos com tratamentos e controles (McHugh, 2011). Para os dados moleculares as

análises foram repetidas duas vezes. Após a codificação dos dados, as distâncias entre os tratamentos foram obtidas pelo método de Jaccard, em seguida foi realizado um agrupamento baseado no método hierárquico da média não ponderada-UPGMA (*Unweighted pair-group method with arithmetic averages*). Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa Genes (Cruz, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Triagem fitoquímica

A caracterização química do extrato foi realizada pela triagem de presença e ausência das principais classes dos metabólitos secundários presentes no extrato aquoso foliar em estudo. Foram identificados taninos, chalconas, auronas, catequinas, flavononas, triterpenoides, saponinas e ácidos fixos fortes (Tabela 2). Luna et al. (2014), estudando a secreção de idioblastos, cavidades secretoras e tricomas glandulares de folhas de *M. coriacea*, também identificaram a produção de terpenóides, além de lipídios, dentre os compostos apolares. Além disso, os mesmos autores realizaram a extração e caracterização do óleo essencial foliar desta espécie, no qual foram encontrados como compostos majoritários: β -elemeno, γ -muuroleno e α -cadieno.

Tabela 2. Caracterização química por presença e ausências das principais classes de metabólitos secundários do extrato aquoso foliar de *Mysine coriacea*.

| Classe | Presença (+)/Ausência(-) |
|--------------------------------|--------------------------|
| Fenóis | - |
| Taninos | + |
| Antocianinas e Antocianidinas | - |
| Flavonas, Flavonóis e Xantonas | - |
| Chalconas e Auronas | + |
| Flavanonóis | - |
| Leucoantocianidinas | - |
| Catequinas | + |
| Flavononas | + |
| Resina | - |
| Esteroides | - |
| Triterpenoides | + |
| Saponinas | + |
| Ácidos Fixos Fortes | + |

Fonte: os autores

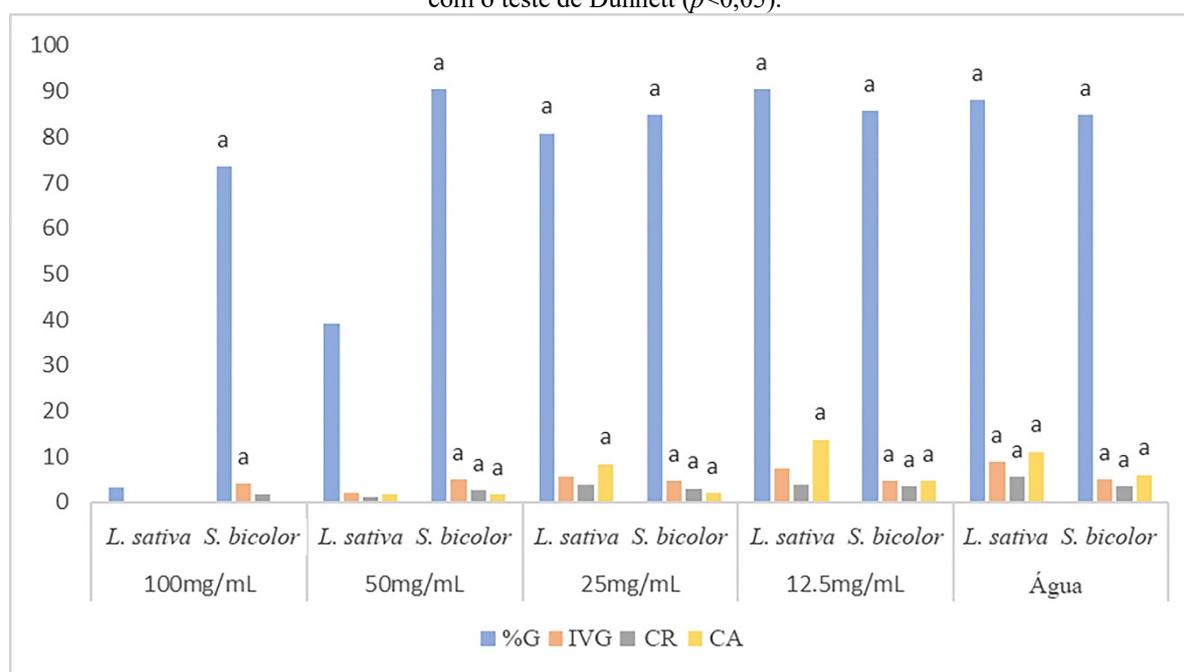
ENSAIOS BIOLÓGICOS

Os dados acessados nas avaliações de fitotoxicidade demonstraram que o extrato foi fitotóxico para ambos os modelos estudados, porém a ação foi mais acentuada na eudicotiledônea *L. sativa*. Essa maior sensibilidade de eudicotiledônea em ensaios fitotóxicos

já tem sido descrito por outros autores (Pinheiro et al. 2015, Silveira et al. 2017, Alves et al. 2018).

A variável %G apresentou inibição significativa de 96,36% em *L. sativa* para o tratamento de 100mg/mL e 55,45% para o tratamento de 50mg/mL (Figura 1). Em *S. bicolor* não houve diferença significativa dos tratamentos quando comparados com o controle (Figura 1).

Figura 1. Fitotoxicidade do extrato aquoso foliar de *M. coriacea*. Onde representam: %G – porcentagem de germinação, IVG – índice de velocidade de germinação, CR – crescimento radicular, CA – crescimento aéreo em *Lactuca sativa* e *Sorghum bicolor*. Em que as barras seguidas pela letra a se igualaram ao controle de acordo com o teste de Dunnett ($p < 0,05$).



O IVG de sementes de *L. sativa* foi inibido, sendo essa redução de 98,47%, 77,46%, 37,17% e 16,92% nas sementes tratadas com 100, 50, 25 e 12,5mg mL⁻¹ do extrato de *M. coriacea*, respectivamente (Figura 1). Essa variável tem sido considerada mais sensível do que a %G, uma vez que, a germinação final das sementes muitas vezes não sofre redução significativa, apresentando, entretanto, um atraso nesse processo, o qual é refletido no IVG (Pinheiro et al. 2015, Costa et al. 2017). Dessa forma, a avaliação da %G e do IVG de maneira conjunta é importante, pois demonstra a toxicidade aguda e branda de um agente.

Para o modelo *S. bicolor* houve redução de 51,71% no CR das plântulas tratadas com o extrato na concentração de 100mg mL⁻¹ (Figura 1). Já em *L. sativa*, todas as concentrações do extrato foram tóxicas, havendo redução significativa, quando comparadas com o controle, de 99,25%, 78,60%, 34,02% e 33,56% das plântulas tratadas com 100, 50, 25 e 12,5mg/mL do



extrato aquoso foliar de *M. coriacea*, respectivamente (Figura 1). Esse efeito mais acentuado em *L. sativa* pode estar relacionado com a interação entre o retardo na velocidade de germinação das sementes e o desenvolvimento radicular, observado apenas na eudicotiledônea (Costa et al. 2017).

Ademais, os compostos fenólicos, como as catequinas presente no extrato em estudo (Tabela 2), alteram a síntese de hormônios vegetais, a atividade enzimática e a síntese de proteínas (Li et al. 2010). Tais processos estão relacionados ao desenvolvimento da planta podendo determinar a sua inibição.

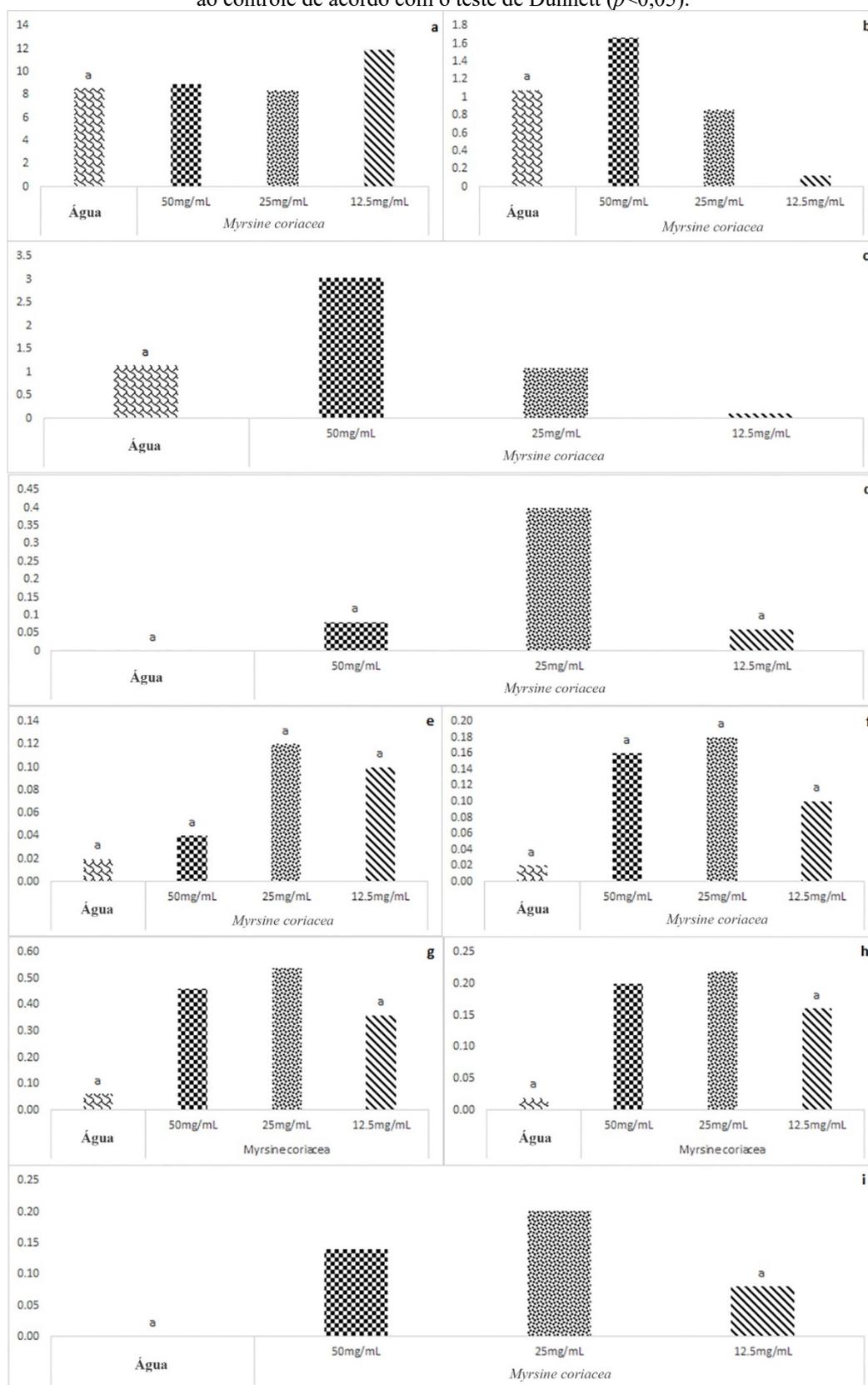
A variável CA apresentou inibição significativa em ambos os modelos, sendo essa de 100% (totalmente inibido) e 83,84% para os tratamentos 100 e 50mg/mL, respectivamente, em *L. sativa*, e 97,96% em plântulas de *S. bicolor* tratadas com o extrato na concentração de 100mg/mL (Figura 1). A inibição no CA e dos outros parâmetros fitotóxicos são relacionados com o efeito do agente tóxico sobre a integridade das membranas, a atividade enzimática, bem como no ciclo celular dos organismos modelos (Pinheiro et al. 2015, Aragão et al. 2017, Alves et al. 2018).

Os resultados citotóxicos foram avaliados em *L. sativa*, por apresentar resposta adequada nesse tipo de teste (Silveira et al. 2017). Não foi possível realizar análises da citotoxicidade do extrato na concentração 100mg/mL, devido ao fato de, não haver desenvolvimento radicular suficiente para análise das sementes expostas à essa concentração (Figura 1), provavelmente pela deficiência energética provocada pelos compostos fenólicos (Li et al. 2010, Dos Santos et al. 2018).

Observou-se uma diminuição significativa do MI de 28,49%, 25,13% e de 30,00% nas células meristemáticas tratadas com 50, 25 e 12,5mg/mL do extrato, respectivamente, quando comparados com o controle negativo (Figura 2a). Tal resultado também pode estar relacionado com a atividade de polifenóis e do flavonóide quecitrina, os quais são reconhecidos por sua atividade antiproliferativa (Dos Santos et al., 2018).

A atividade antiproliferativa do extrato foi acompanhada do aumento de AC em aproximadamente 9, 14 e 7 vezes e no acréscimo nas AN de aproximadamente 11, 30 e 11 vezes, nas células meristemáticas tratadas com 50, 25 e 12,5mg/mL do extrato (Figura 2a, 2b e 2c).

Figura 2. Citotoxicidade do extrato aquoso de folhas de *M. coriacea*. Onde representam: a – índice mitótico (IM), b – alterações cromossômicas totais (AC), c – alterações nucleares totais (AN), d – micronúcleos (frequência de AN), de e-i frequências de AC, e – cromossomos perdidos, f – c-metáfases, g – cromossomos aderentes, h – ponte cromossômica, i – células poliploides. Em que as barras seguidas pela letra a se igualaram ao controle de acordo com o teste de Dunnett ($p < 0,05$).



Fonte: os autores



A AN mais frequente foi núcleo condensado, uma vez que, apenas o tratamento 25mg/mL apresentou aumento significativo no número de micronúcleos (Figura 2d). As células com núcleo condensado não se encontram mais no ciclo mitótico, pelo contrário, esse é o primeiro passo no processo de morte celular, o que contribui conseqüentemente para a redução do IM (Andrade et al. 2010, Andrade-Vieira et al. 2011).

A alteração cromossômica mais frequente foram cromossomos aderentes, aumentados 7,5 e 9 vezes nos tratamentos 50 e 25mg/mL, respectivamente, quando comparados com o controle (Figura 2g). Também se observou aumento de células poliploides (Figura 2i e ponte cromossômica, essa última aumentou 10 e 11 vezes nos tratamentos de 50 e 25 mg/mL, respectivamente, quando comparado com o controle (Figura 2h).

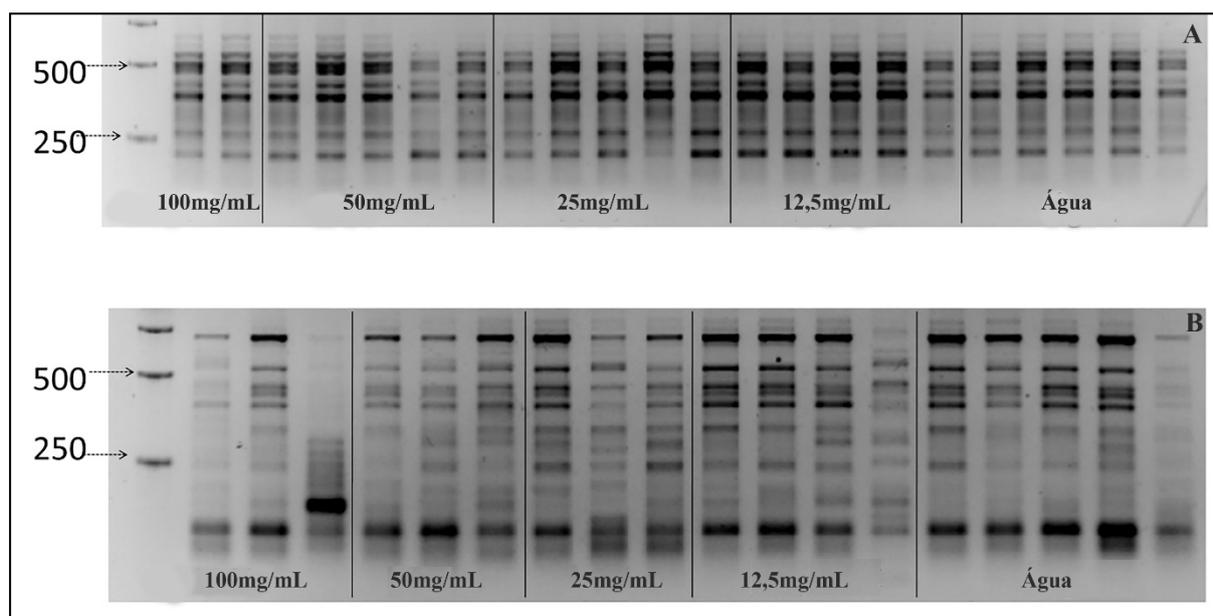
Os tipos de alterações cromossômicas podem ser divididos em dois grupos de acordo com seu mecanismo de ação. As alterações do tipo clastogênicas, são as que, o composto exerce ação no DNA do indivíduo, sendo expressa pela ocorrência de pontes cromossômicas. As alterações do tipo aneugênicas são causadas por compostos químicos que atuam no aparelho do fuso mitótico, acarretando ao final da divisão a perda ou ganho cromossômico à célula filha, tendo expressão na forma de c-metáfases, cromossomos aderentes, poliploidização (Andrade-Vieira et al. 2012). O aumento significativo de AC como cromossomo aderente, ponte e poliplodização, demonstra que o composto apresenta mecanismo de ação tanto clastogênico, quanto aneugênico.

Para a investigação da integridade do DNA após exposição ao extrato de *M. coriacea* pelo menos duas repetições de cada tratamento tiveram sementes germinadas. Isso permitiu que fosse extraído DNA genômico em concentrações e qualidade satisfatória para todos os tratamentos nos bioensaios com *L. sativa* e *S. bicolor*. Em grande parte dos trabalhos realizados para verificar os efeitos de extrato de plantas sobre o desenvolvimento dessas espécies modelos, há geminação em todos os tratamentos, entretanto ocorre alteração nos níveis de germinação entre os diferentes tratamentos (Andrade-Vieira et al. 2014).

Neste trabalho foram testados 20 marcadores ISSR e dez foram escolhidos para amplificação em *L. sativa* e seis em *S. bicolor* (Tabela 1), por apresentarem um bom padrão de amplificação, bandas nítidas e bem definidas. A utilização de marcadores ISSR tem sido sugerida para vários organismos como ferramenta para a avaliação de poluentes ambientais, se tornando uma metodologia usual na identificação de genes alterados por agentes contaminantes (Alves et al. 2018).

Os primers selecionados proporcionaram a obtenção de 56 bandas para *L. sativa* e 35 para *S. bicolor*. A quantidade de bandas nítidas por primer para *L. sativa* variou de 2 (UBC 840) a 8 (UBC 861, 834) com média de 5,6. Já para *S. bicolor* houve variação de 3 (UBC 814) a 10 (UBC 808) com média de 4,5. Neste trabalho foi encontrado 28% de polimorfismo para *L. sativa* e 60% para *S. bicolor*, sendo que a porcentagem de polimorfismo apresentado por marcadores dominantes é reportada na literatura como indicativo de diversidade genética (Chen et al. 2006, Carvalho et al. 2012).

Houve alterações nos perfis de amplificação entre os tratamentos através da perda ou ganho de bandas (Figura 3). Esse fato pode estar relacionado com a ocorrência de alterações em algumas regiões do DNA, podendo impedir anelamento do primer, resultando em mudanças nos perfis de bandas (Enan, 2007). Assim, o ganho, perda ou alteração na intensidade da banda são tipos de danos observados em testes moleculares que tornam evidente a instabilidade do genoma de um organismo no que diz respeito a um determinado composto (Alves et al. 2018).

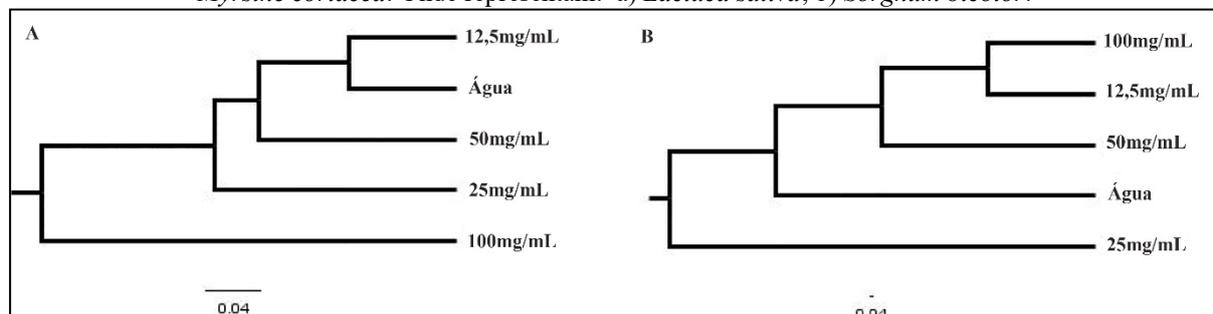


Fonte: os autores

Ocorreu a formação de dois grupos para os tratamentos em alface, considerando distância de 0,42 entre os grupos (Figura 4a). O grupo G1 é composto pelos tratamentos controle, 12,5, 25 e 50mg/mL; e G2 contém o tratamento de 100mg/mL (Figura 4a). Para sorgo na distância de 0,42 observou-se a formação de quatro grupos: G1 foi composto pelos tratamentos 100 e 12,5mg/mL, G2 pelo tratamento 50mg/mL, G3 pelo controle; e G4 pelo tratamento de 25mg/mL (Figura 4b). Assim, para *L. sativa* houve maior genotoxicidade para o tratamento de 100mg/mL, uma vez que este ficou em um grupo isolado dos demais tratamentos.

Já o modelo *S. bicolor*, se mostrou mais sensível a genotoxicidade do extrato testado, tendo o controle isolado em um grupo.

Figura 4. Agrupamento hierárquico dos tratamentos, baseados no índice de Jaccard, mostrando a relação genética das diferentes concentrações (100, 50, 25 e 12.5mg/mL, Água destilada) do extrato aquoso foliar de *Myrsine coriacea*. Onde representam: a) *Lactuca sativa*; b) *Sorghum bicolor*.



Fonte: os autores

Os valores de distância genética para *L. sativa* variaram de 0,156 a 0,633, sendo que a menor dissimilaridade foi observada entre o controle e 12,5mg/mL (0,156) e a maior entre 50 e 100mg/mL (0,633) (Tabela 3). Os dados de dissimilaridade mostram o quanto dois tratamentos são diferentes um do outro, onde, quanto menor o valor de dissimilaridade, mais próximos são os grupos em questão. Assim, para *L. sativa* os grupos mais próximos um do outro foram o controle e o tratamento de menor concentração (12,5mg/mL) testado (Tabela 3). Já para *S. bicolor* a dissimilaridade variou de 0,394 (12,5 e 100mg/mL) a 0,670 (25mg/mL e o controle) (Tabela 3), sendo aqueles os tratamentos mais próximos e esses os mais distantes entre si.

Tabela 3 – Distância de Jaccard obtida com marcadores ISSR em DNA de *L. sativa* (diagonal superior em cinza) e de *S. bicolor* (diagonal inferior em azul). Onde as concentrações estão em mg/mL.

| | 100 | 50 | 25 | 12,5 | Control |
|---------|-------|-------|-------|-------|---------|
| 100 | - | 0,633 | 0,622 | 0,588 | 0,578 |
| 50 | 0,516 | - | 0,399 | 0,302 | 0,274 |
| 25 | 0,637 | 0,629 | - | 0,334 | 0,325 |
| 12,5 | 0,394 | 0,476 | 0,524 | - | 0,156 |
| Control | 0,615 | 0,595 | 0,670 | 0,540 | - |

Fonte: os autores

Observou-se assim, que a dissimilaridade entre os tratamentos mais próximos de *L. sativa* (com 0,156 de distância genética) foi menor do que dos tratamentos mais próximos de *S. bicolor* (0,394 de distância genética). Esses resultados podem estar relacionados com a porcentagem de polimorfismo encontrada em cada espécie, uma vez que esse último parâmetro



é um indicativo de diversidade genética, logo uma maior diversidade pode propiciar uma maior distância entre os tratamentos mais próximos (Chen et al. 2006, Carvalho et al. 2012).

Além disso, esses dados corroboram com os encontrados pela análise por agrupamento neste trabalho. No agrupamento do modelo *S. bicolor* os tratamentos mais próximos foram 100 e 12,5mg/mL (Figura 4b), enquanto para a *L. sativa* foram o controle e 12,5mg/mL (Figura 4a). Esses dados também são reforçados pela correlação cofenética encontrada, a qual mede o grau de ajuste entre as distâncias obtidas na matriz de dissimilaridade (distância de Jaccard) e o método de agrupamento (Bussab et al. 1990), e que segundo Rohlf e Fisher (1968), para ser considerada satisfatória, deve apresentar valores de associação acima de 0,80, sendo nesse trabalho evidenciado associação de 0,96 para *L. sativa* e 0,89 para *S. bicolor*.

Diferentes estudos mostraram que as mudanças no padrão de amplificação do DNA refletem alterações no genoma, desde mutações pontuais à rearranjos cromossômicos complexos (Atienzar et al. 2002), tornando os ensaios de marcadores moleculares úteis na avaliação de ecotoxicologia (Körpe e Aras, 201, Liu et al. 2007).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As ferramentas avaliativas selecionadas demonstraram resultados satisfatórios para concluir que o extrato estudado apresenta efeito alelopático negativo tanto para mono quanto para eudicotiledônea, sendo dessa maneira, fitotóxico, citotóxico e genotóxico. Além disso, foi possível determinar que o extrato aquoso de folhas de *M. coriacea* possui mecanismos de ação clastogênico e aneugênico.

REFERÊNCIAS

- Almeida, K. C.; Barbosa, T. R.; Silva, R. N. R.; Jacques, D. S.; Freire, R. B., 2006. Efeito citotóxico do infuso aquoso de *Psidium guajava* L. (Myrtaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia. 87, 2, 60-62.
- Alves, T. de A.; Pinheiro, P.F.; Praça-Fontes, M.M.; Andrade-Vieira, L.F.; Corrêa, K.B.; Alves, T. de A., Da Cruz, F.A., Lacerda Júnior, V., Ferreira, A., Soares, T.C.B., 2018. Toxicity of thymol, carvacrol and their respective phenoxyacetic acids in *Lactuca sativa* and *Sorghum bicolor*. Industrial Crops and Products, 114, 59-67.
- Andrade, L. F.; Davide, L. C.; Gedraite, L. S., 2010. The effect of cyanide compounds, fluorides and inorganic oxides present in spent pot Linner on germination and root tip cells of *Lactuca sativa*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 25, 626–631.



. Andrade-Vieira, L.F., Gedraite, L.S., Campos, J.M.S., Davide, L.C., 20-11. Spent Pot Liners (SPL) induced DNA damage and nuclear alterations in root tip cells of *Allium cepa* as a consequence of programmed cell death. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 882-888.

Andrade-Vieira, L.F., Botelho, C.M., Palmieri, M.J., Laviola, B.G., Praça-Fontes, M.M., 2014. Effects of *Jatropha curcas* oil in *Lactuca sativa* root tip bioassays. *Anais da Academia Brasileira de Ciências (Impresso)*, 86, 373-382.

Aragão, F.B., Palmieri, M.J., Ferreira, A., Costa, A.V., Queiroz, V.T., Pinheiro, P.F., Andrade-Vieira, L.F., 2015. Phytotoxic and cytotoxic effects of *Eucalyptus* essential oil on lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Allelopathy Journal*, 35(2), 259-272.

Atienzar, F.A., Venier, P., Jha, A. N., Depledge, M. H. F.A., 2002. Evaluation of the random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay for the detection of DNA damage and mutations. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 521, 1, 151-163.

Burger, M. C. M.; Terezan, A. P.; Cunha, G. S. O.; Fernandes, J. B.; Silva, M. F. G. F.; Vieira, P. C.; Menezes, A. C. S., 2015. Antimicrobial activity of the myrsinoic acid A from *Myrsine coriacea* and the semi- synthetic derivatives. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25, 451-454.

Bussab, W. O., Miazaki, E.S.; Andrade, D.F., 1990. Introdução à análise de agrupamentos. São Paulo, Associação Brasileira de Estatística (9º Simpósio Brasileiro de Probabilidade e Estatística).

Carrijo, T.T.; Tuler, A.C.; Lubert, J.; da Costa, R.G., dos Santos, M.C.; da Paschoa, R.P.; (); Freitas, M.F. 2017. Flora do Espírito Santo: Primulaceae. *Rodriguésia* 1829-1856. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201768518>

Carvalho, R.S.; Pinto, J.F.N.; Reis, E.F.; Santos, S.C.; Dias, L.A.S., 2012. Variabilidade genética de cajuzinho-do-cerrado (*anacardium humile* st. hill.) por meio de marcadores RAPD. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal*, 34, 1, 227-233.

Chen, J. M.; Gituru, W.R.; Wang, Y.H.; Wang, Q.F., 2006. The extent of clonality and genetic diversity in the rare *Caldesia grandis* (Alismataceae): comparative results for RAPD and ISSR markers. *Aquatic Botany, Amsterdam*, 84, 4, 301-307.

Costa, A. V.; de Oliveira, M. V. L.; Pinto, R. T.; Moreira, L. C.; Gomes, E. M. C.; Alves, T. A.; Pinheiro, P. F.; de Queiroz, V. T.; Andrade-Vieira, L. F.; Teixeira, R. R.; Jesus Júnior, W. C., 2017. Synthesis of Novel Glycerol-Derived 1,2,3-Triazoles and Evaluation of Their Fungicide, Phytotoxic and Cytotoxic Activities. *Molecules*, 22, 10, 1-15.

Cruz, A. B.; Kazmierczak, K.; Gazoni, V. F.; Monteiro, E. R.; Fronza, L. M.; Martins, P.; Yunes, R. A.; Bürger, C.; Tomio, T. A.; Freitas, R. A.; Malheiros, A., 2013. Bio-guided isolation of antimicrobial compounds from *Rapanea ferruginea* and its cytotoxic and genotoxic potential. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7, 19, 1323-1329.

Cruz, C.D., 2013. GENES – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum. Agronomy (Online)*, 35, 271-276.

Dos Santos, D. M., Rocha, C. V. J., da Silveira, E. F., Marinho, M. A. G., Rodrigues, M. R., Silva, N. O., Ferreira, A. S., de Moura, N. F., Darelli, G. J. S., Braganhol, E., Horn, A. P., 2018.



In Vitro Anti/Pro-oxidant Activities of *R. ferruginea* Extract and Its Effect on Glioma Cell Viability: Correlation with Phenolic Compound Content and Effects on Membrane Dynamics. *The Journal of membrane biology*, 251, 2, 247-261.

Doyle, J.J.; Doyle, J.L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13-15.

Januário, A. H.; Vieira, P. C.; Silva, M. F. G. F.; Fernandes, J. B., 1991. Terpeno-p-hydroxybenzoic acid derivatives from *Rapanea umbellata*. *Phytochemistry*, 30, 6, 2019-2023.

Januário, A. H.; Silva, M. F. G. F.; Vieira, P. C.; Fernandes, J. B., 1992. Dammarane and cycloartanetriterpenoids from three *Rapanea* species. *Phytochemistry*, 31, 4, 1251-1253.

Körpe, D. A.; Aras, S., 2011. Evaluation of copper-induced stress on eggplant (*Solanum melongena* L.) seedlings at the molecular and population levels by use of various biomarkers. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 719, 1, 29-34.

Li, Z. H.; Wang, Q.; Ruan, X.; Pan, C. D.; Jiang, D. A., 2010. Phenolics and plant allelopathy. *Molecules*, 15, 8933-8952.

Liu, W.; Yang, Y. S.; Zhou, Q.; Xie, L.; Li, P. A.; Sun, T., 2007. Sun, Impact assessment of cadmium contamination on rice (*Oryza sativa* L.) seedlings at molecular and population levels using multiple biomarkers. *Chemosphere*, 67, 6, 1155-1163.

Lorenzi, H., 1992. Árvores brasileiras. Nova Odessa, Plantarum, 352p.

Luna, B. N.; Defaveri, A. C. A. E.; Sato, A.; Bizzo, H. R.; Freitas, M. D. F.; Barros, C. F., 2014. Leaf secretory tissues in *Myrsine coriacea* and *Myrsine venosa* (Primulaceae): ontogeny, morphology, and chemical composition of essential oils. *Botany*, 92, 10, 757-766.

Macías, F. A.; Oliveros-Bastidas, A.; Marín, D.; Carrera, C.; Chinchilla, N.; Molinillo, J. M. G., 2008. Plant biocommunicators: their phytotoxicity, degradation studies and potential use as herbicide models. *Phytochemistry Reviews*, 7, 179-194.

McHugh, M. L., 2011. Multiple comparison analysis testing in ANOVA. *Biochemical Medicine*, 21, 3, 203-209.

Midiwo, J. O., Yenesew, A., Juma, B.F., Derese, S., Ayoo, J.A., Aluoch, A.O., Guchu, S., 2002. Bioactive compounds from some Kenyan ethnomedicinal plants: Myrsinaceae, Polygonaceae and Psidium punctulata. *Phytochemistry Reviews*, 1, 3, 311-323, 2002.

Pascotto, M. C., 2007. *Rapanea ferruginea* (Ruiz & Pav.) Mez. (Myrsinaceae) como uma importante fonte alimentar para as aves em uma mata de galeria no interior do Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Zoologia*, 24, 3, 735-741.

Pinheiro, P. F.; Costa, A. V.; Alves, T. A.; Galter, I. N.; Pinheiro, C. A.; Pereira, A. F.; Oliveira, C. M.; Fontes, M. M. P., 2015. Phytotoxicity and cytotoxicity of essential oil from leaves of *Plectranthus amboinicus*, carvacrol, and thymol in plant bioassays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(41), 8981-8990.

Rice, E. L. Allelopathy. Academic Press, 2 ed, (pp 1), Orlando, Florida. 1984.



Rodriguez, E.; West, J. E., 1995 International research on biomedicines from the tropical rain forest. *Interciência*, 20, 3, 140-143.

Rohlf, F. J.; Fisher, D.R., 1968. Tests for hierarchical structure in random data sets. *Systematic Biology*, 17, 4, 407-412.

Silva, G. B.; Martim, L.; Silva, C. L.; Young, M. C. M.; Ladeira, A. M., 2006. Potencial alelopático de espécies arbóreas nativas do Cerrado. *Hoehnea*, 33, 3, 331-338.

Silveira, G. L., Lima, M. G. F., Reis, G. B., Palmieri, M. J., Andrade-Vieira, L. F., 2017. Toxic effects of environmental pollutants: Comparative investigation using *Allium cepa* L. and *Lactuca sativa* L. *Chemosphere*, 178, 359-367.

Zhong, X. N.; Otsuka, H.; Ide, T.; Hirata, E.; Takushi, A.; Takeda, Y., 1997. Three flavonoid glycosides from leaves of *Myrsine seguinii*. *Phytochemistry*, 46, 5, 943-946.

Zhong, X. N.; Otsuka, H.; Ide, T.; Hirata, E.; Takushi, A.; Takeda, Y., 1998. Hydroquinone glycosides from leaves of *Myrsine seguinii*. *Phytochemistry*, 9, 7, 2149-2153.

Zhong, X. N.; Otsuka, H.; Ide, T.; Hirata, E.; Takeda, Y., 1999. Hydroquinone diglycosides acyl esters from leaves of *Myrsine seguinii*. *Phytochemistry*, 52, 923-927.



CAPÍTULO 7

AVALIAÇÃO DOS RELATÓRIOS DA QUALIDADE DA ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO NO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO EM 2019

Flavia Faria Leite
Roberta Veronese do Amaral
Saulo Paschoaletto de Andrade

RESUMO

A água possui importância fundamental para a manutenção da vida, inclusive dos seres humanos. A falta da potabilidade da água nem sempre é perceptível aos nossos sentidos, sendo necessária análise laboratorial para detectá-la, e sendo a qualidade desta primordial para a saúde do seu consumidor. A qualidade da água para o consumo humano se torna um problema social e econômico para o país quando associada à saúde da população, já que as internações hospitalares de pacientes no Sistema Único de Saúde (SUS), por doenças causadas pela falta de saneamento básico e acesso à água de qualidade, são fatores que interferem diretamente na qualidade de vida dos cidadãos e na economia do município. Sendo assim, o presente trabalho visou avaliar a qualidade da água oferecida à população do município do Rio de Janeiro, através da comparação de dados públicos divulgados, referentes ao ano de 2019, pelas agências responsáveis pela manutenção da potabilidade da água no município, CEDAE, e o programa VIGIAGUA. De acordo com pesquisas realizadas conclui-se que os sistemas de abastecimento Guandu e Ribeirão das Lajes são responsáveis pela maior parte da distribuição de água dentro do município, e o programa VIGIAGUA é administrado pela prefeitura, mais especificamente pela subsecretaria de vigilância, fiscalização sanitária e controle de zoonoses. A avaliação da qualidade da água distribuída para as residências em relação ao número de amostras coletadas por cada órgão responsável dentro do município, ao longo do ano de 2019, foi positiva com exceção para o sistema Ribeirão das Lajes. Em relação às amostras analisadas, para os parâmetros físico-químicos ambos os sistemas de abastecimento divulgaram resultados dentro do esperado, mas o programa VIGIAGUA acusou um número alto de amostras fora do padrão principalmente no mês de maio de 2019, com 43% das amostras consideradas insatisfatórias. A avaliação microbiológica evidenciou a falta de cumprimento das normas exigidas pelo Ministério da Saúde, tanto por parte dos sistemas de abastecimento da CEDAE, como para o programa VIGIAGUA, os padrões de potabilidade da água já tratada dentro do sistema de distribuição encontram-se fora do considerado satisfatório e necessário à segurança da saúde pública. Por fim, conclui-se que o monitoramento da qualidade da água para consumo humano vem evoluindo no país, assim como também no município do Rio de Janeiro, porém ainda se tem muito que desenvolver principalmente em relação à transparência dos dados relacionados à qualidade da água que chega aos domicílios, e também às medidas de prevenção às doenças associadas ao consumo de água não potável. A preocupação com a qualidade da água consumida pela população deve ser constante, e inserida desde a infância no cotidiano familiar, para que assim no futuro possamos ter gerações mais responsáveis e conscientes socialmente da importância dela à saúde coletiva e individual.

PALAVRAS-CHAVE: Água, Qualidade, Potabilidade, Físico-química da água, Microbiologia da Água.



INTRODUÇÃO

A água possui importância fundamental para a manutenção da vida, inclusive dos seres humanos. Porém, por conta da alta capacidade de dissolver substâncias, a qualidade da água ingerida deve ser constantemente avaliada, já que esta pode se caracterizar como veículo de compostos químicos e possíveis patógenos causadores de doenças (SOUSA e SARDINHA, 2021). A falta da potabilidade da água nem sempre é perceptível aos nossos sentidos, sendo necessária uma análise laboratorial para detectá-la. O controle microbiológico da água faz-se necessário devido a essa característica de veículo de transmissão de microrganismos, dentre estes, o grupo dos coliformes totais, bactérias termotolerantes, protozoários, vírus e fungos causadores de inúmeras doenças. Tais microrganismos podem ser responsáveis pela ocorrência de diversas enfermidades graves (KASVI, 2021).

Milhões de pessoas morrem a cada ano de doenças transmitidas pela água e um número ainda maior sofre com estas patologias, principalmente crianças menores de cinco anos. A maioria destas doenças pode ser prevenida melhorando a cobertura e a qualidade dos serviços de saneamento básico (FIOCRUZ, 2020).

Segundo Yamaguchi, *et al.* (2013) a água contaminada associada a falta de saneamento básico mata anualmente cerca de 1,6 milhões de pessoas no mundo. Sendo assim, o acesso à água limpa é um direito humano básico. No Brasil, o custo gerado para o tratamento de doenças transmitidas ou causadas por águas contaminadas, segundo o Ministério da Saúde (MS), é equivalente a US\$ 2,7 bilhões por ano.

A qualidade da água para o consumo humano tornar-se problema social e econômico para o país quando associada à saúde populacional, já que as internações hospitalares de pacientes no Sistema Único de Saúde (SUS), por doenças causadas pela falta de saneamento básico e acesso à água de qualidade, geram um custo exorbitante aos cofres públicos (GONÇALVES, 2018).

No Brasil 85,5% dos domicílios têm como principal forma de abastecimento de água a rede geral, e os domicílios com esgotamento sanitário atingem 68,3%, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2019), entretanto tais serviços não fornecem necessariamente água potável e saneamento seguro. Sendo assim, destaca-se que o saneamento deficiente e a água contaminada podem estar diretamente ligados à transmissão de inúmeras doenças que utilizam tal meio (OPAS BRASIL, 2017).

A discussão com a sociedade possibilita que medidas concretas e mais eficazes sejam tomadas em conjunto a realidade social e cultural de cada município. Segundo o site do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS, 2019), o município do Rio de Janeiro possui



98,44 % da população atendida com o abastecimento de água domiciliar, no ano de 2019, logo grande parte da população do município possui acesso à água tratada. Porém, o índice hidrométrico, relacionado ao percentual de ligações ativas (medidas por hidrômetro) em relação ao total de ligações existentes no município, encontra-se neste mesmo ano, na faixa de 53,23 %, o que indica um alto número de ligações clandestinas, e que podem levar a contaminação da rede de distribuição. Outro dado importante mensurado é o índice de esgoto tratado em relação à água consumida por tal população, este dado para o município do Rio de Janeiro em 2019 foi de apenas 65,62 %. O índice expressa o percentual do volume de esgoto que foi submetido a tratamento em relação ao volume de esgoto gerado, considerando-se o volume de esgoto gerado sendo igual ao volume de água consumido por tal população.

A importância do tema a ser discutido e analisado, antevê a relação existente entre a qualidade da água consumida pela população e a saúde humana, logo possui alta relevância social, além de econômica.

Desta forma, o presente trabalho pretende avaliar o enquadramento da Companhia Estadual de Águas e Esgotos (CEDAE) em relação aos critérios exigidos dentro do Município do Rio de Janeiro em 2019, através da comparação dos relatórios de análises disponíveis nos órgãos públicos de fiscalização, neste caso a subsecretaria de vigilância, fiscalização sanitária e controle de zoonoses. Verificar a utilização das normas e exigências presentes no Programa Nacional de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano (VIGIAGUA), sendo este de responsabilidade da prefeitura. Na garantia da eficácia de tal programa, e segurança da qualidade da água que chega às residências do município do Rio de Janeiro, e é utilizada por tal população para o consumo direto (GOVERNO DO ESTADO DO RJ, 2020)

É importante para a manutenção da garantia da qualidade da água oferecida à população brasileira a constante vigilância por parte da comunidade científica, a fim de explicitar tais dados coletados e traduzir os mesmos para a população, que afinal é a consumidora do produto. A saúde da população se mostra um problema coletivo e integrado de inúmeras áreas, e deve ser responsabilidade de todos os cidadãos (BRASIL, 2006).

Por fim, supõe-se analisar se tais dados públicos são suficientes para atestar a qualidade da água consumida pela população do município do Rio de Janeiro, além de verificar a aplicabilidade do programa desenvolvido pela subsecretaria de vigilância, fiscalização sanitária e controle de zoonoses. Caso possível indicar melhores metodologias para a gestão, segurança e garantia da qualidade da água.



REFERENCIAL TEÓRICO

A potabilidade da água para consumo humano é disciplinada atualmente na Portaria 05/17, publicada no Diário oficial em 03 de outubro de 2017 pelo Ministério da Saúde (MS), intitulada como “Portaria de Consolidação das Normas sobre as Ações e os Serviços de Saúde do Sistema Único de Saúde”. Esta norma revogou a famosa Portaria 2914/11, também no MS, e que também dispunha sobre potabilidade de Água (ANVISA, 2017).

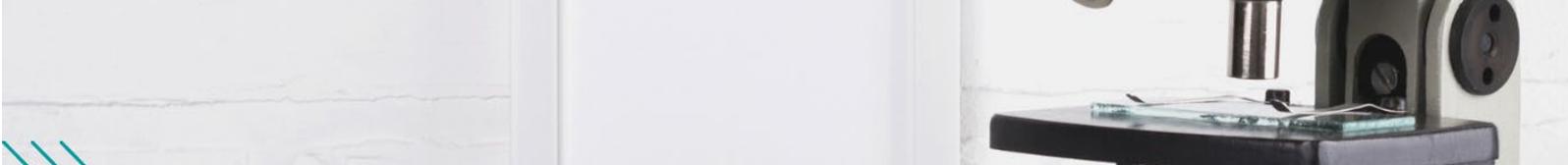
Com a criação do Código do SUS que abrange o conteúdo normativo da antiga Portaria, no anexo XX da Portaria 05/17, em seus artigos 3º e 4º, verificam-se algumas regras importantes sobre potabilidade de água para consumo humano.

“Art. 3º. Toda água destinada ao consumo humano, distribuída coletivamente por meio de sistema ou solução alternativa coletiva de abastecimento de água, deve ser objeto de controle e vigilância da qualidade da água.” e; “Art. 4º. Toda água destinada ao consumo humano proveniente de solução alternativa individual de abastecimento de água, independentemente da forma de acesso da população, está sujeita à vigilância da qualidade da água” (ANVISA, 2017).

Segundo a CEDAE, empresa responsável pelo tratamento, abastecimento e distribuição de água no município do Rio de Janeiro, a mesma realiza rotineiramente mais de 100 coletas diárias de amostras para análise da qualidade da água ao longo de sua rede de distribuição, além de coletas nas saídas das estações de tratamento e mananciais. Os laudos das análises laboratoriais são divulgados segundo as determinações do Ministério da Saúde, com o objetivo de levar informação e maior transparência ao público. A empresa também divulga o resumo anual dos dados analíticos de cada rede de distribuição, que se resumem em informações sobre os sistemas de abastecimento, conforme decreto presidencial 5440/05 e o Código de Defesa do Consumidor (CDC). Os dados analíticos do sistema de abastecimento integrado podem ser verificados no resumo e as demais informações no relatório anual informativo (CEDAE, 2020).

O programa VIGIAGUA no Município do Rio de Janeiro faz parte, atualmente, da Subsecretaria de Vigilância, Fiscalização Sanitária e Controle de zoonoses. Tal secretaria é responsável por realizar as coletas e análises das amostras de água para consumo humano, de acordo com a norma técnica do MS, com o objetivo de fiscalizar a água distribuída e orientar a empresa responsável caso haja alguma evidencia do descumprimento das medidas de manutenção da potabilidade da água ao longo de toda a rede de distribuição ali presente.

Presentes nas três esferas de gestão do SUS, o programa da Vigilância Ambiental em Saúde Relacionada à Qualidade da Água para Consumo Humano (VIGIAGUA) tem como objetivo monitorar o padrão de potabilidade da água, preconizado pela Portaria GM/MS 2.914/2011, das diversas formas de abastecimento de água, utilizando o Sistema de Informação de Vigilância da Qualidade da Água – SISAGUA, que fornece



dados que subsidiam o processo de tomada de decisão do gestor (GOVERNO DO ESTADO DO RJ, 2018).

Através de uma análise microbiológica da água é possível a identificação de alguns microrganismos potencialmente nocivos à saúde humana, como, por exemplo, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*. Essas bactérias são comumente encontradas no trato intestinal de animais de sangue quente. Sendo assim, uma vez encontradas na água de consumo, demonstra que a higiene desse reservatório pode estar comprometida, ou que o tratamento realizado não foi suficientemente adequado para os padrões de potabilidade exigidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (ROCHA *et al.*, 2011).

Segundo o Programa Nacional VIGIAGUA [...]

[...] “a água utilizada para consumo humano é um bem essencial que garante saúde e qualidade de vida à população, quando distribuída em quantidade suficiente e com qualidade que atenda ao padrão de potabilidade estabelecido na legislação vigente” (ANVISA, 2017).

A não disponibilidade de informações relativas à qualidade da água atinge os diferentes níveis do poder público. O acesso às informações do Sistema de Informações de Vigilância da Qualidade da Água (SISAGUA), por exemplo, é limitado, o que contribui para diminuição do controle social, pilar previsto pelo SUS. A fim de elucidar a situação atual do país, Freitas & Freitas (2005), sugerem que a participação dos diferentes atores sociais, como sujeitos ativos na elaboração, formulação, execução e avaliação da qualidade da água para o consumo humano, são fundamentais para superar o modelo vigente e hegemônico de vigilância. Um passo fundamental para isto é a disponibilização das informações presentes no SISAGUA, de maneira clara e ampla para população geral.

O Brasil apresenta carência de saneamento básico, do início ao fim do processo, ou seja, desde o tratamento da água para consumo humano até a destinação adequada de resíduos orgânicos e o tratamento de efluentes. Portanto, é imprescindível a realização de análises microbiológicas periódicas nos reservatórios de água que avaliam a existência de bioindicadores de contaminação fecal. Levando em consideração o altíssimo custo empregado no SUS para o tratamento de doenças relacionadas ao consumo de água não potável, e o alto índice de mortes relacionadas às tais doenças, o valor empenhado em análises laboratoriais preventivas pode ser considerado de baixo custo, tendo em vista o benefício social e econômico de tal conduta (ROCHA *et al.*, 2011).

METODOLOGIA

Por meio do levantamento de dados públicos referente à análise da qualidade da água no município do Rio de Janeiro, obtiveram-se relatórios disponíveis no site da Companhia Estadual de Águas e Esgotos (CEDAE), empresa responsável pelos sistemas de abastecimento de água no Estado do Rio de Janeiro. Tal pesquisa disponibilizou relatórios anuais dos inúmeros sistemas de abastecimento que atendem a praticamente todo o Estado, principalmente a região metropolitana e a baixada fluminense.

Para o presente trabalho foram utilizados os dados presentes nos relatórios anuais dos Sistemas Guandu e Ribeirão das Lajes, ano 2019, disponibilizados e publicados no site da empresa (CEDAE, 2020).

Com a finalidade de realizar uma análise comparativa, utilizaram-se também os relatórios de avaliações físico-químicas e microbiológicas da água, ao longo dos meses de 2019, mais especificamente os percentuais de cumprimento do plano de amostragem para as análises de cloro residual livre, turbidez e coliformes totais/*Escherichia coli*, determinados pela Portaria de Consolidação No. 5, Anexo XX, do Ministério da Saúde, e divulgados pela subsecretaria de vigilância, fiscalização sanitária e controle de zoonoses, responsável pelo programa VIGIAGUA dentro do município, tais relatórios possuem acesso irrestrito no site da prefeitura do Rio do Janeiro (PREFEITURA DO RJ, 2020).

A análise quantitativa realizada no presente trabalho será demonstrada através de gráficos e tabelas, utilizando dados comparativos obtidos da pesquisa bibliográfica descrita, e embasada na literatura disponível sobre as normas vigentes para o monitoramento da qualidade da água, com foco no município do Rio de Janeiro.

RESULTADOS

Tabela 1: Número de amostras coletadas no município do Rio de Janeiro em 2019, para análise da qualidade da água pelo programa VIGIAGUA e CEDAE, com relação ao exigido pelo Ministério da Saúde.

| PLANO DE AMOSTRAGEM MÍNIMO RIO DE JANEIRO 2019 | | | | |
|--|-----|---|-----|---|
| MÉDIA ANUAL DAS AMOSTRAS MENSIS COLETADAS NO MUNICÍPIO | | | | |
| PROGRAMA VIGIAGUA | 244 | | 169 | |
| CEDAE | Cor | Bacteriologia, cloro residual e turbidez. | Cor | Bacteriologia, cloro residual e turbidez. |
| SISTEMA GUANDU | 560 | 1004 | 360 | Acima de 1000 |
| SISTEMA RIBEIRÃO DAS LAJES | 124 | 143 | 112 | 465 |

Fonte: BRASIL, 2017; CEDAE, 2020; PREFEITURA DO RJ, 2020.

Tabela 2: Média anual dos resultados obtidos para as análises dos parâmetros físico-químicos da água coletada no município do Rio de Janeiro em 2019 pelo programa VIGIAGUA e CEDAE, em relação ao exigido pelo MS.

| PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS 2019 | | | | | | |
|---------------------------------------|--------------|--------|----------------------|----------|--------------------------------------|----------------------|
| MÉDIA ANUAL DOS RELATÓRIOS ANALISADOS | | | | | | |
| PROGRAMA VIGIAGUA | Satisfatório | | Insatisfatório | | 95% satisfatórias (conforme Art. 30) | |
| | 82,7% | | 17,3% | | | |
| CEDAE | Turbidez | Cor | Cloro residual livre | Turbidez | Cor | Cloro residual livre |
| SISTEMA GUANDU | 2,8 UNT | 7,6 uH | 1,7 mg/L | < 5 UNT | < 15 uH | 0,2 a 5,0 mg/L |
| SISTEMA RIBEIRÃO DAS LAJES | 2,9 UNT | 9,2 uH | 1,7 mg/L | | | |

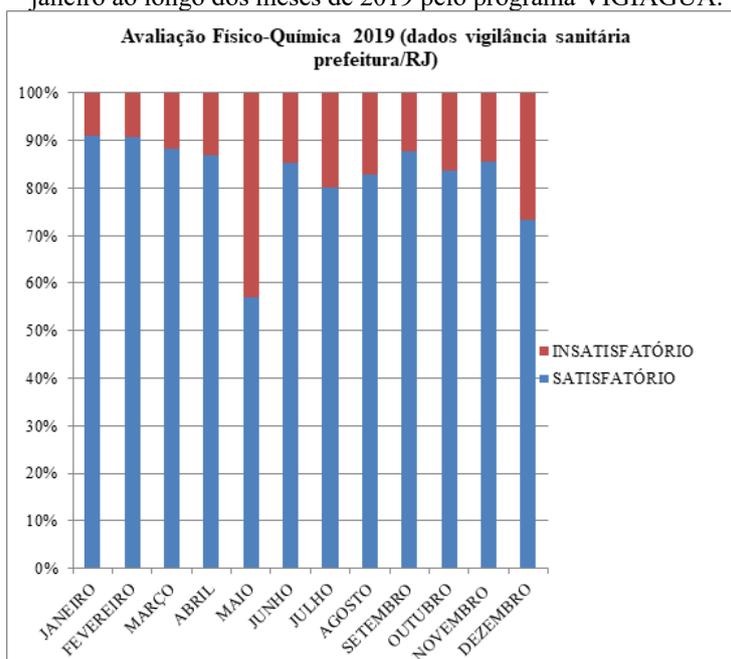
Fonte: CEDAE, 2020; PREFEITURA DO RJ, 2020; BRASIL, 2017.

Tabela 3: Média anual de resultados das análises microbiológicas realizadas no município do Rio de Janeiro em 2019, pelo programa VIGIAGUA e CEDAE com relação ao exigido pelo MS.

| PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS 2019 | | | | |
|---------------------------------------|-------------------|----------------|--|-----------------------------|
| MÉDIA ANUAL DOS RELATÓRIOS ANALISADOS | | | | |
| PROGRAMA VIGIAGUA | Satisfatório | Insatisfatório | Ausência de indicadores de contaminação em 100% das amostras analisadas. | |
| | 99,2 % | 0,8 % | | |
| CEDAE | Coliformes Totais | <i>E. Coli</i> | Coliformes Totais | <i>E. Coli</i> |
| SISTEMA GUANDU | 94,1 % | 99,6 % | Ausência em 100 ml em 95%. | Ausência em 100 ml em 100%. |
| SISTEMA RIBEIRÃO DAS LAJES | 92,9 % | 99,1 % | | |

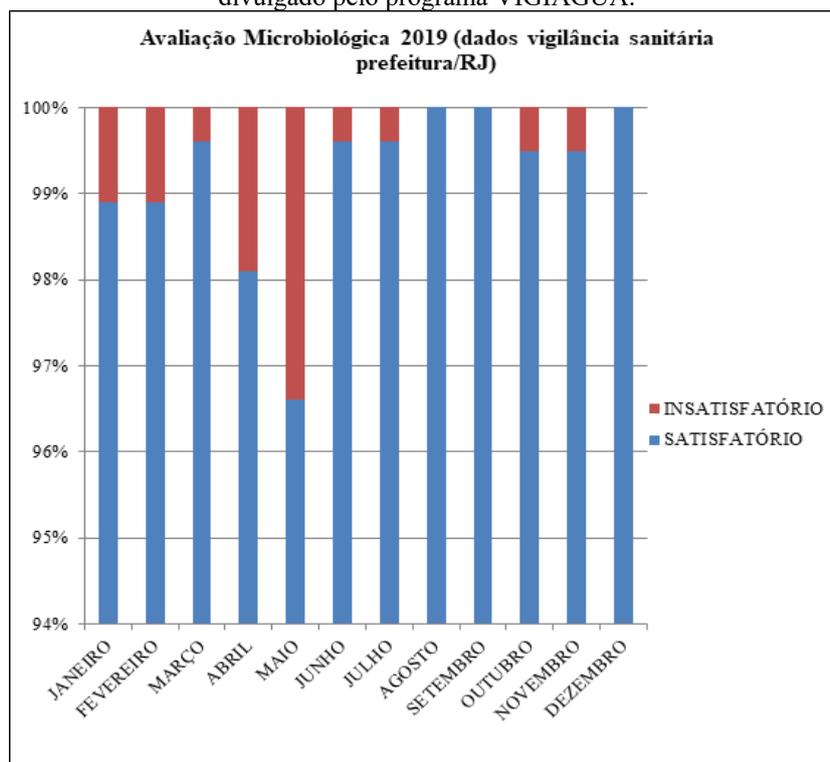
Fonte: CEDAE, 2020; PREFEITURA DO RJ, 2020; BRASIL, 2017.

Gráfico 1: Resultado da avaliação dos parâmetros físico-químicos da água coletada no município do Rio de Janeiro ao longo dos meses de 2019 pelo programa VIGIAGUA.

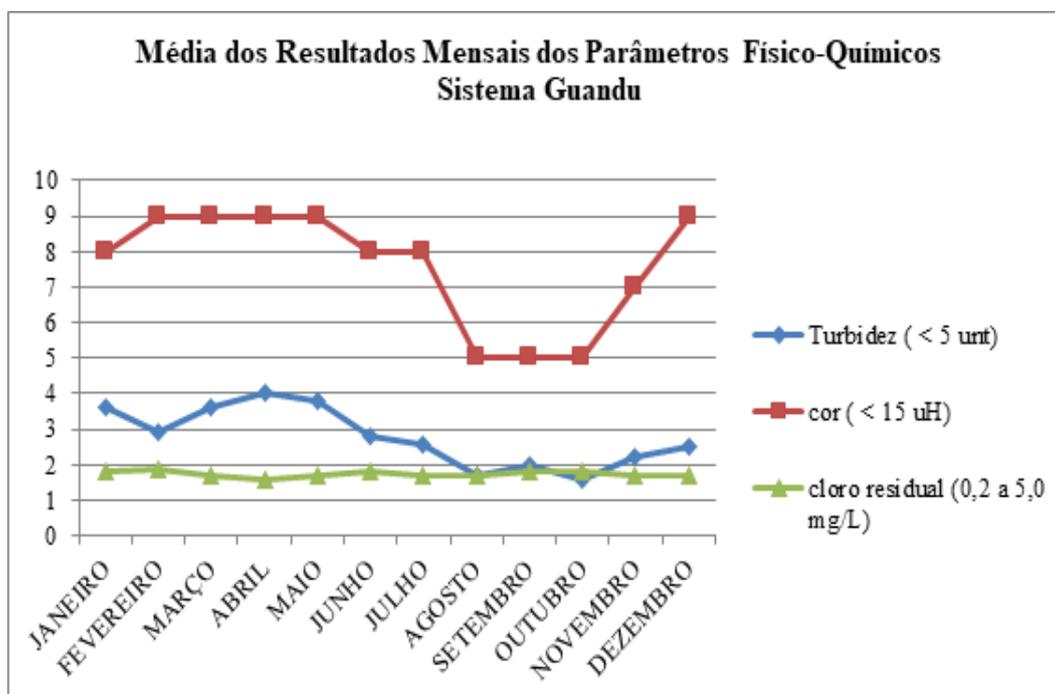


Fonte: PREFEITURA DO RJ, 2020.

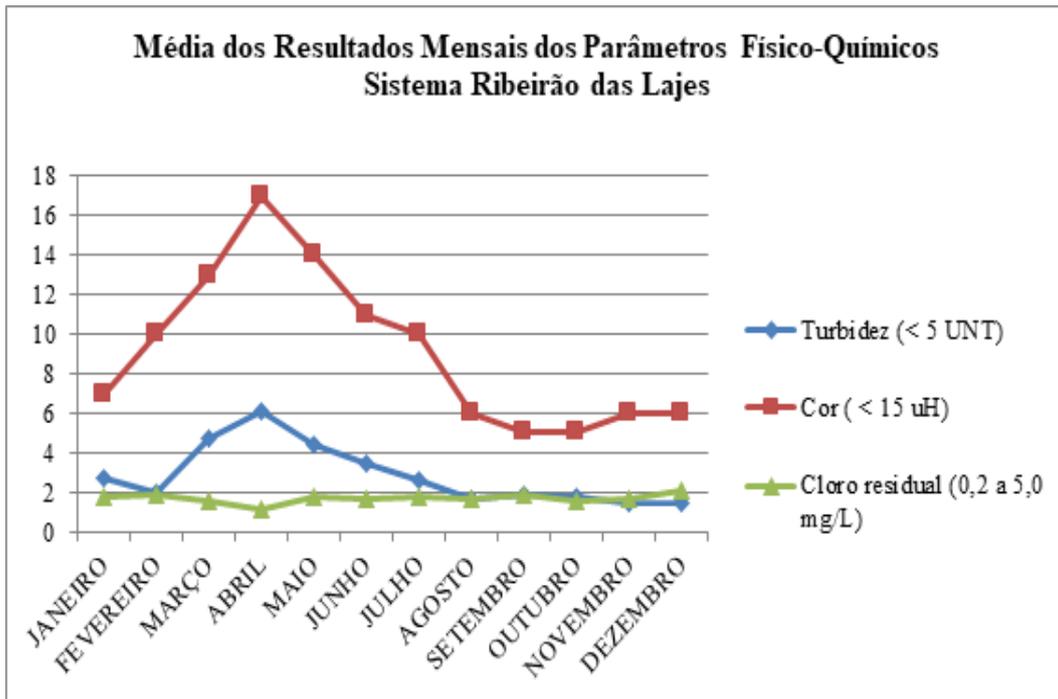
Gráfico 2: Resultado da avaliação microbiológica da água no município do Rio de Janeiro, ao longo de 2019, divulgado pelo programa VIGIAGUA.



Fonte: PREFEITURA DO RJ, 2020.

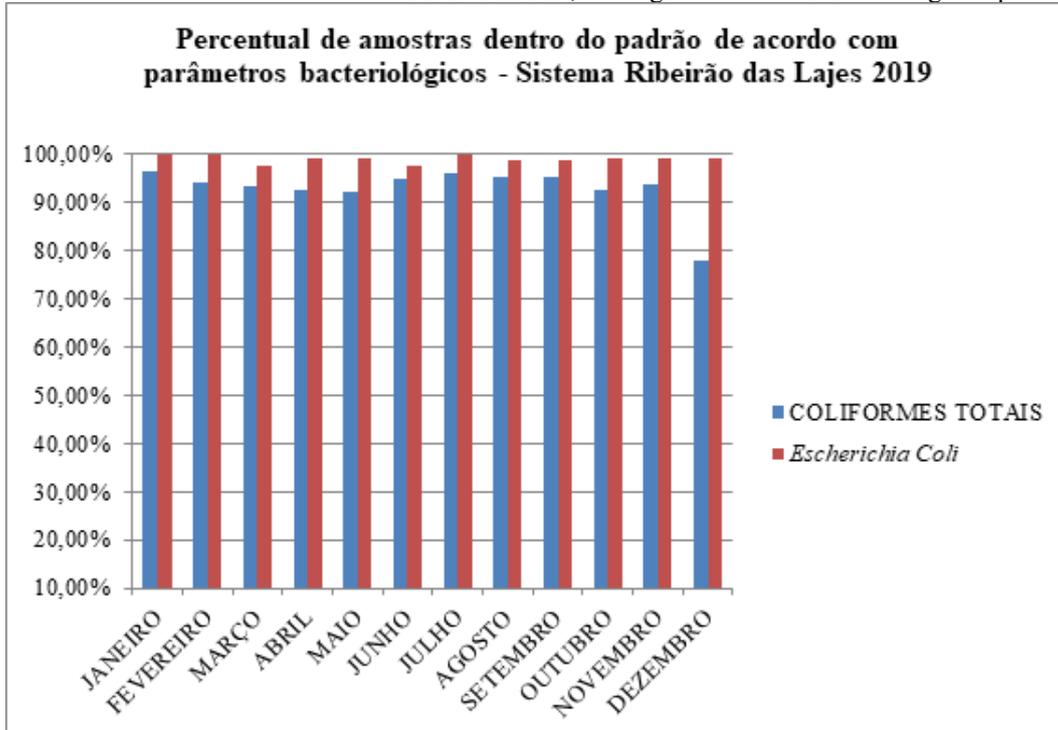


Fonte: CEDAE, 2020.



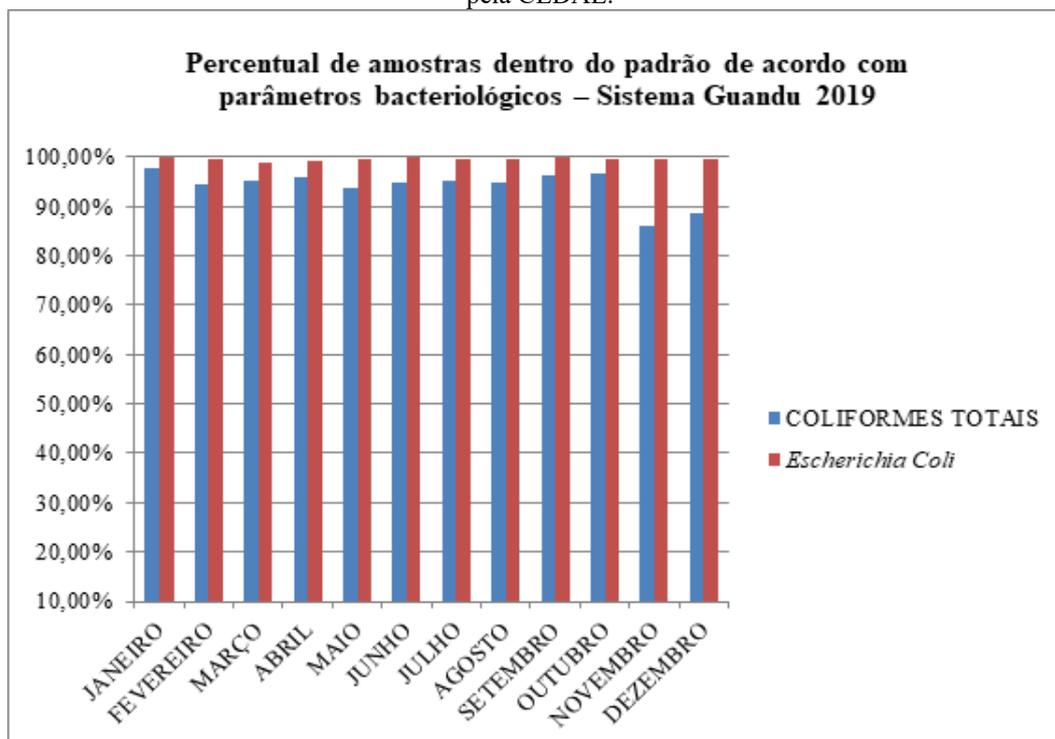
Fonte: CEDAE, 2020.

Gráfico 5: Resultados da análise microbiológica da água distribuída pelo Sistema Ribeirão das Lajes, em relação aos parâmetros coliformes totais e bactéria *Escherichia coli*, ao longo do ano de 2019 e divulgados pela CEDAE.



Fonte: CEDAE, 2020.

Gráfico 6: Resultados mensais detalhados da análise microbiológica da água distribuída pelo Sistema Guandu, em relação aos parâmetros coliformes totais e bactéria *Escherichia coli*, ao longo do ano de 2019 e divulgados pela CEDAE.



Fonte: CEDAE, 2020.

DISCUSSÃO

O Sistema Guandu é responsável pelo abastecimento de 85 % do município do Rio de Janeiro, segundo dados da CEDAE, e o restante seria referente ao Sistema Ribeirão das Lajes, conforme metodologia descrita no presente trabalho, concluiu-se que o sistema Guandu e Ribeirão das Lajes são os que atendem diretamente a capital fluminense, neste caso o município do Rio de Janeiro, que corresponde ao local selecionado para o estudo. Portanto, consideram-se os dados presentes nos relatórios anuais de tais sistemas de abastecimento como válidos em termos comparativos com as análises e coletas realizadas pela Vigilância em Saúde dentro do município do Rio de Janeiro, já que a origem, tratamento e distribuição da água advêm numa maior porcentagem de tais sistemas, atingindo assim o maior número de domicílios locais.

O plano de amostragem mínimo preconizado pelo MS (BRASIL, 2016) prevê que a subsecretaria do município do Rio de Janeiro deva coletar água para análises em no mínimo 169 pontos mensais, durante o ano de 2019, pois leva em consideração a população de habitantes do município deste mesmo ano, segundo os dados do IBGE (2019). Em média a amostragem de tal secretaria é superior à exigida chegando a 244 pontos de coleta, ou seja, a 144,4 % do preconizado pela portaria. Média essa obtida através de cálculos estatísticos dos relatórios disponibilizados na página da prefeitura do município do Rio de Janeiro. Tais



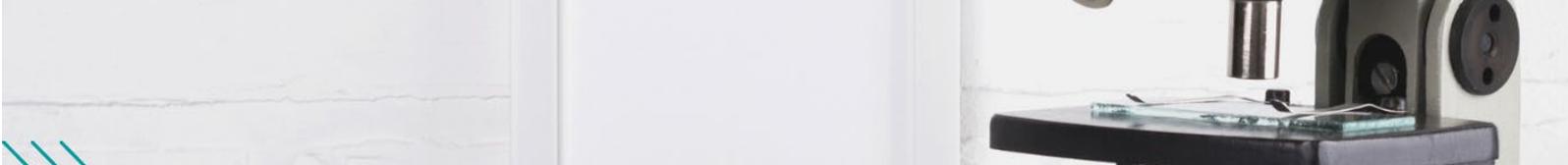
resultados estão demonstrados na **Tabela 1**, em comparação aos dados divulgados pela CEDAE.

Já nos relatórios divulgados pela CEDAE a frequência e o número de amostras a ser coletada, é definida de acordo com o número de habitantes da população abastecida pelo sistema responsável (de acordo com o Anexo 12 do anexo XX da portaria de consolidação N° 5), destaca-se que o sistema Guandu abastece aproximadamente 8 milhões de habitantes, incluindo capital e região Metropolitana do Rio de Janeiro, sendo assim faz-se necessário no mínimo 360 amostras mensais, relativas ao parâmetro cor, sendo o manancial do tipo superficial. Sendo aplicados os mesmos critérios ao sistema Ribeirão das Lajes, responsável pelo abastecimento de 1,8 milhão de habitantes, são necessárias no mínimo 112 amostras mensais relativas ao parâmetro cor (BRASIL, 2017).

Para parâmetros como turbidez e cloro residual, aplica-se o Art. 41 § 3º da lei “Em todas as amostras coletadas para análises microbiológicas, deve ser efetuada medição de turbidez e de cloro residual livre”. E o anexo 13 do anexo XX, Portaria N° 5 do MS, define o número de amostras mensais em relação aos parâmetros microbiológicos de acordo com a população abastecida por cada sistema de distribuição.

Neste caso o sistema Guandu responsável pelo abastecimento de aproximadamente 8 milhões de habitantes, atinge ao limite máximo de 1000 amostras mensais, tendo média descritos em seu relatório 1004 coletas de amostras mensais para o ano de 2019. Já o sistema Ribeirão das Lajes, quanto ao número de amostras para bacteriologia, cloro residual e turbidez, de acordo com os critérios definidos deveriam ter 465 amostras mensais, e são descritas somente 143 amostras mensais em média durante o ano de 2019.

A tabela 2 compara os dados relativos ao programa VIGIAGUA e os divulgados pela CEDAE com relação aos parâmetros físico-químicos analisados. Segundo mapa demonstrativo divulgado pelo programa VIGIAGUA, não é possível definir exatamente qual dos parâmetros encontram-se em desacordo com as normas de potabilidade exigidas, somente afirmar que pelo menos um deles (turbidez, cor e/ou cloro residual) tornou a amostra insatisfatória. A porcentagem de amostras insatisfatórias em relação aos parâmetros físico-químicos foi de 17,3 %, número este bem superior aos 5 % de amostras permitidas pela norma. Tal porcentagem não classifica diretamente a água analisada como imprópria para o consumo humano, já que tais parâmetros como cor, turbidez e cloro residual são somente indicadores da qualidade da água,



sendo necessária a complementação de análises microbiológicas para maiores conclusões (BRASIL, 2006).

O Gráfico 1, demonstra os resultados obtidos pelo programa VIGIAGUA, sendo que a média de amostras satisfatórias foi de 82,7 %, e de amostras insatisfatórias foi de 17,3 %. Como já demonstrado em tabela 2 em comparação aos resultados divulgados pela CEDAE. Observou-se considerável oscilação das estatísticas ao longo do ano, que varia de 9 % de amostras com resultados insatisfatórios em janeiro, sendo este o menor índice mensal, a 43 % em maio. Tais números podem ser considerados exorbitantes já que atingem marcas muito superiores aos 5 % toleráveis, e podem indicar uma situação mais grave em relação à segurança do consumo desta água pela população. Aliás, vale destacar que em nenhum mês o município esteve abaixo do percentual de 5 %.

A análise dos dados divulgados pela CEDAE, nos Gráficos 3 e 4 demonstram os resultados de cada sistema com relação aos parâmetros físico-químicos ao longo dos meses do ano de 2019. O gráfico referente ao Sistema Guandu demonstra os parâmetros de turbidez, cor e cloro residual livre todos dentro das margens exigidas pelo Anexo XX da Portaria N° 5, porém como tais resultados consistem numa média, esta é diluída dentro do total de amostras coletadas mensalmente, sendo assim não se descarta a existência de amostras insatisfatórias pontuais. Por exemplo, no mês de janeiro têm-se 1016 amostras sendo analisadas para turbidez e cloro residual livre, e 566 para cor. Em contraste com o programa VIGIAGUA que realizou neste mesmo período, a amostragem de 277 pontos do município. No sistema Ribeirão das Lajes, em relação aos parâmetros físico-químicos analisados demonstram os valores bem próximos ao exigido pela norma, porém destaca-se um aumento substancial na média no mês de abril, nos valores de turbidez e cor, sendo estas 6,1 e 17, respectivamente. Tais parâmetros organolépticos por muitas vezes encontram-se associados.

A falta de monitoramento da qualidade da água ou mesmo o número reduzido de tal prática por parte dos responsáveis em saúde pública, afeta de forma direta ou indireta os índices de qualidade de vida da população, já que interferem no número de óbitos, doenças e internações relacionadas à qualidade da água consumida. Não se vê publicidade clara e objetiva, dos órgãos competentes e o esclarecimento de dúvidas da população mais carente do município, e que é a mais atingida pela falta de saneamento básico, sendo assim a mais vulnerável a doenças relacionadas ao consumo de água imprópria.



Os resultados apresentados pela CEDAE, nos relatórios oficiais anuais e demonstrado na tabela 3, encontram-se em ambos os sistemas, fora do padrão de exigência do MS, apesar de próximos. No caso dos coliformes totais a legislação prevê um valor máximo permitido (VMP) de 95 % das amostras dentro do padrão, e os resultados foram de 94,1 % e 92,9 %, para os sistemas Guandu e Ribeirão das lajes, respectivamente. Já para a detecção de *E. coli* nas amostras coletadas, o VMP previsto é de 100 %, e os resultados foram de 99,6 % para o sistema Guandu, e 99,1 % para o sistema Ribeirão das lajes.

Levando em consideração o alto número de amostras coletadas para o controle microbiológico no sistema Guandu, acima de 1.000 mensais, e no total de 12.051 durante o ano de 2019, o número de amostras positivas para coliformes totais foram de 711, e de 48 amostras positivas para *E. coli*. Este número é relativamente baixo, considerando que tais amostras foram coletadas durante todo o ano de 2019, entretanto não exclui a necessidade de uma apuração mais rigorosa, e um alerta das autoridades, já que em nenhum dos meses foi obtido o ideal do padrão exigido, que seja totalmente negativo para *E. coli* após o tratamento da água, e dentro do sistema de distribuição. Tais amostras são coletadas em pontos estratégicos de distribuição dentro de residências ou não, conforme plano de amostragem pré-definido (CEDAE, 2020).

O sistema Ribeirão das lajes, como já demonstrado, segundo a legislação, deveria ter uma coleta mensal de pelo menos 465 amostras, já que é relativo à população abastecida por tal sistema, sendo assim, o previsto seria 5.580 amostras anuais totais, o que equivale a 325 % da quantidade divulgada oficialmente. Tal quantidade inferior à necessária faz com que os resultados da análise da qualidade da água, para tal sistema de abastecimento, sejam insuficientes para a garantia da saúde da população consumidora, que deveria ser protegida pelos órgãos competentes segundo os critérios estabelecidos pelo MS (BRASIL, 2017).

O gráfico 2, referente a avaliação microbiológica realizada pelo programa VIGIAGUA. Observou-se um claro aumento das amostras insatisfatórias das análises microbiológicas nos meses de abril e maio, dentro do município do Rio de Janeiro, e apesar de ambos os meses a porcentagem não ultrapassar os 5 % previstos de possíveis análises positivas para coliformes totais, este aumento coincide com o brusco aumento na avaliação físico-química de tais amostras. Sendo assim, todas as amostras coletadas pela subsecretaria de vigilância, Fiscalização Sanitária e Controle de Zoonoses, tiveram como resultado no mês de abril, 1,9 % insatisfatórias para a avaliação microbiológica, e 13,2 % insatisfatórias para avaliação físico-química; e no mês de maio, 3,4 % insatisfatórias para a avaliação microbiológica e 43 % para a avaliação físico-química.



Considerando que foram 265 pontos de coleta, de amostras de água para análise, conforme divulgado em relatórios oficiais, somente no mês de abril tem-se o total de 40 amostras consideradas insatisfatórias, o que equivale a 15 % do total de pontos de coleta dentro do mês, já que os mesmos não são coincidentes no mapa. E para o mês de maio, um total de 123 amostras consideradas insatisfatórias, o que equivale a 46,4 % do total de amostras mensais, neste caso alguns pontos coincidem em ambos os mapas. Sendo assim, em tais meses a subsecretaria deve/deveria adotar medidas corretivas em relação à utilização desta água pela população. Provavelmente, a devida orientação e auxílio para que nos domicílios exista algum método extra de higienização da água, antecedente ao seu consumo (filtração, fervura ou cloração), seja suficiente para assegurar a garantia da saúde da população do município em relação ao consumo desta água (BRASIL, 2014).

Destaca-se que somente os meses de agosto, setembro e dezembro apresentaram as amostras 100 % satisfatórias, que seriam os resultados ideais levando em consideração o risco que tal contaminação pode levar a população. Apesar da média de amostras insatisfatórias serem próxima a 0,8 % das amostras analisadas no ano 2019, com um acréscimo relevante para os meses de abril e maio, este se torna um dado preocupante quando se considera que tais pontos de coletas dentro do município levam água a uma população de aproximadamente 6.718.903 habitantes (IBGE, 2020), logo extrapolando a noção de coleta aleatória e difundida pelos diversos bairros do município do Rio de Janeiro, pode-se supor que até 53.751 habitantes podem ter recebido água pelo sistema distribuição em condições inapropriadas de consumo, durante o ano de 2019.

Os gráficos 5 e 6 detalham os resultados do controle microbiológico divulgado pela CEDAE, relativas aos sistemas de abastecimento Ribeirão das Lajes e Guandu, respectivamente. Assim como em tais relatórios, discriminam-se os resultados para coliformes totais e *Escherichia coli*, ao longo dos meses de 2019 e faz-se um comparativo da porcentagem de amostras consideradas dentro do padrão microbiológico exigido pela norma. Desta forma a diferença de tais resultados para 100 % das amostras equivale ao percentual fora dos padrões estabelecidos.

O sistema Ribeirão das Lajes demonstra alta porcentagem de amostras dentro dos padrões microbiológicos exigidos, porém a média mensal por diversas vezes ultrapassa o VMP, desta forma, em relação aos coliformes totais os meses de janeiro, julho, agosto e setembro encontram-se acima dos 95 % ideais para a garantia da qualidade da água destinada ao consumo humano. Os demais meses do ano encontram-se abaixo do VMP, com ênfase para o mês de



dezembro que possui apenas 77,9 % das amostras dentro do padrão microbiológico exigido. Para as amostras analisadas para *E. coli*, somente os meses de janeiro, fevereiro e julho, encontram-se dentro do padrão de 100 % das amostras negativas para a bactéria; sendo assim os demais meses do ano encontram-se fora do padrão, com os piores índices nos meses de março e junho, ambos com 2,2 % das amostras positivas para *E. coli*.

No acompanhamento microbiológico do sistema Guandu, em relação à bactéria *E. coli*, os resultados mostram-se preocupantes, já que em nenhum mês a média apresentada atinge os 100 % ideais, apesar de se manter muito próxima em torno de 99 %. E os resultados relativos aos coliformes totais são considerados fora do padrão em fevereiro, maio, junho, agosto, novembro e dezembro, pois não atingem os 95 % de VMP. Observa-se também aumento substancial de tais resultados para os meses de novembro e dezembro, chegando a atingir 14 % das análises positivas para coliformes totais, por exemplo, no mês de novembro, o que representa 142 amostras positivas em um único mês, já que o número de amostras coletadas neste período foi de 1018.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação comparativa entre os dados do programa VIGIAGUA e o apresentado pela CEDAE em relatórios dos sistemas Guandu e Ribeirão das Lajes, especificamente no município do Rio de Janeiro, ao longo do ano de 2019, demonstra que existe um monitoramento e acompanhamento da qualidade da água direcionada ao consumo humano, baseado na legislação vigente prevista pela Portaria de consolidação nº 5 anexo XX, como discutido ao longo do presente trabalho.

Em relação à quantidade de amostras coletadas mensalmente pelo programa VIGIAGUA, conclui-se que apesar do número de amostras analisadas serem inferiores ao realizado pela empresa responsável pelos sistemas de abastecimento, a CEDAE, tais relatórios imprimem de maneira mais clara e objetiva os resultados obtidos, além de fornecer a localização exata do ponto de coleta no mapa de referência. Portanto os relatórios da prefeitura, neste caso da subsecretaria de vigilância, fiscalização sanitária e controle de zoonoses, demonstram de maneira mais clara e simplificada a real condição da qualidade da água que chega aos domicílios do município do Rio de Janeiro.

Tais relatórios ao demonstrar o percentual de amostras consideradas satisfatórias e insatisfatórias em relação aos parâmetros exigidos, em cada região do mapa municipal, permitem desta forma um melhor planejamento e organização dos órgãos competentes com



relação a pesquisas mais aprofundadas, ou a sanar problemas pontuais, comuns às redes de distribuição, desta maneira mostram-se mais funcionais do ponto de vista do consumidor. Já que tornar os dados relativos ao programa acessíveis à população geral faz parte do processo de amadurecimento do controle da social da segurança em saúde. Sendo assim, conclui-se que o programa tem sido relativamente bem aplicado no município analisado, sendo mantido o número de análises previstas e divulgados tais resultados publicamente, o que é previsto pelo código do SUS com a transparência necessária para a garantia da saúde coletiva.

Entretanto, existem muitos desafios em relação à transparência total de tais dados presentes no programa SISAGUA, por exemplo, que não se mostram acessíveis de maneira totalitária por qualquer cidadão, além de ser necessária uma maior discussão com a população do município em relação às medidas de prevenção e controle de doenças relacionadas à qualidade da água destinada ao consumo humano e que chega às residências.

A empresa responsável pelos sistemas de abastecimento Guandu, e Ribeirão das Lajes, a CEDAE, conforme divulgado em relatórios anuais relativos ao ano de 2019, cumpriu com o previsto pela legislação em relação ao número de amostras coletadas em cada sistema de distribuição e na maioria dos resultados divulgados como sendo a média mensal das análises realizadas. Porém como já destacado na discussão, no relatório do sistema Ribeirão das Lajes, observou-se uma discrepância em relação ao número de amostras mensais coletadas para análise microbiológicas, que se mostra com apenas 1/3 da necessária para o acompanhamento da qualidade da água de tal sistema. Já que o sistema atende a 1,8 milhão de habitantes.

Além disso, os resultados apresentados da avaliação dos parâmetros microbiológicos e físico-químicos, de ambos os sistemas de abastecimento, no ano de 2019, demonstraram falta do cumprimento da norma exigida já na rede de distribuição, ou seja, após o tratamento da água. Este dado torna-se preocupante quando se leva em consideração a presença da bactéria *Escherichia coli*, em praticamente todas as médias mensais apresentadas em tais relatórios, apesar de numa porcentagem baixa, a presença de tal bactéria indica a contaminação recente por fezes humanas ou de animais de sangue quente. Sendo assim, pode possivelmente carregar outros microrganismos patógenos que causam doenças associadas ao consumo desta água, o que leva risco a saúde da população do município.

A fim de sugerir uma melhor gestão da saúde pública no município do Rio de Janeiro, e uma redução dos gastos associados a doenças potencialmente transmitidas pela água não tratada, ou não devidamente tratada, os órgãos competentes devem melhorar sua comunicação



e transparência com a sociedade, para elucidar dúvidas relacionadas ao tratamento da água potável, criando um guia de fácil compreensão, para esclarecer itens como: o controle microbiológico da água; manuseio da água potável após a chegada pela rede de distribuição; limpeza de caixas d'água e reservatórios domiciliares; uso da cloração e/ou filtração por residências quando se faz necessário.

Além disso, faz-se oportuno constituir comissões locais de pequenos grupos, em bairros ainda em desenvolvimento, dentro do município, para intensificar a fiscalização de ligações clandestinas, já que a segurança da água que chega à residência é de interesse de cada cidadão residente da região, e está diretamente ligada a saúde de cada um e de seus familiares, já que utilizam tal água para consumo direto ou indireto, através do preparo de alimentos e afins. A preocupação com a qualidade da água consumida pela população deve ser constante, e inserida desde a infância no cotidiano familiar, para que assim no futuro possamos ter gerações mais responsáveis e conscientes socialmente da importância dela à saúde coletiva e individual.

REFERÊNCIAS

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Do Controle e da Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano e seu Padrão de Potabilidade**. Brasília: SUS, 2017.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de Cloração de Água em Pequenas Comunidades Utilizando o Clorador Simplificado Desenvolvido pela Funasa / Fundação Nacional de Saúde**. – Brasília: Funasa, 2014. Disponível em: <http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/manualdecloracaodeaguaempequenascomunidades.pdf> Acesso em 20 de out. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **PORTARIA DE CONSOLIDAÇÃO Nº 5, DE 28 DE SETEMBRO DE 2017**. Brasília: MS, 2017. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/marco/29/PRC-5-Portaria-de-Consolida----o-n---5--de-28-de-setembro-de-2017.pdf>>. Acesso em: 09 set. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância e Controle da Qualidade da Água Para Consumo Humano**. Brasília: MS, 2006. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia_controle_qualidade_agua.pdf>. Acesso em: 15 out. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Diretriz Nacional do Plano de Amostragem da Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano**. Brasília: MS, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Controle da Qualidade da Água para Técnicos que Trabalham em ETAS**. Brasília: FNS, 2014.

CEDAE. **Apresentação A CEDAE.** www.cedae.com.br, 2020. Disponível em: <[https://www.cedae.com.br/apresentacao#:~:text=Apresenta%C3%A7%C3%A3o-,A%20CEDAE,Rio%20de%20Janeiro%20\(SANERJ\).](https://www.cedae.com.br/apresentacao#:~:text=Apresenta%C3%A7%C3%A3o-,A%20CEDAE,Rio%20de%20Janeiro%20(SANERJ).>)>. Acesso em: 20 de maio 2020.

CEDAE. **Relatório Anual Sistema Guandu.** Disponível em: <https://www.cedae.com.br/portals/0/relatorio_anual/2020/GUANDU.pdf> Acesso em maio de 2020.

CEDAE. **Relatório Anual Sistema Ribeirão das Lajes.** Disponível em: <https://www.cedae.com.br/portals/0/relatorio_anual/2020/RIBEIR%C3%83O%20DAS%20LAJES.pdf> Acesso em mai. de 2020.

CNS. **Conselho Nacional de Saúde.** Ministério da Saúde, 1990. Disponível em: <<http://conselho.saude.gov.br/legislacao/lei8080.htm>>. Acesso em: 09 mar. 2021.

EDBERG, S. C. *et al.* Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection. **Journal of Applied Microbiology**, Denver, n. 88, p. 106-116, 2000.

FIOCRUZ. **Ministério da Saúde.** FIOCRUZ, 2020. Disponível em: <[http://www.fiocruz.br/omsambiental/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=190&sid=13#:~:text=Milh%C3%B5es%20de%20pessoas%20morrem%20a,qualidade%20dos%20servi%C3%A7os%20de%20saneamento.](http://www.fiocruz.br/omsambiental/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=190&sid=13#:~:text=Milh%C3%B5es%20de%20pessoas%20morrem%20a,qualidade%20dos%20servi%C3%A7os%20de%20saneamento.>)>. Acesso em: 10 abr. 2021.

FORTES, A. C. C.; BARROCAS, P. R. G.; KLIGERMAN, D. C. A vigilância da qualidade da água e o papel da informação na garantia do acesso. **Saúde em debate**, 43-46. Rio de Janeiro, 13 jan. 2020.

FREITAS, M. B.; FREITAS, C. M. D. A vigilância da qualidade da água para consumo humano - desafios e perspectivas para o Sistema Único de Saúde. **ABRASCO - Associação Brasileira de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, jun. 2005.

GONÇALVES, C. **www.agenciabrasil.ebc.com.br.** Agência Brasil, 2018. Disponível em: <<https://agenciabrasil.ebc.com.br/saude/noticia/2018-09/doencas-ligadas-falta-de-saneamento-geram-custo-de-r-100-mi-ao-sus>>. Acesso em: 25 set. 2020.

GOVERNO DO ESTADO DO RJ. **Rio com Saúde.** www.riocomsaude.rj.gov.br, 2018. Disponível em: <<http://www.riocomsaude.rj.gov.br/site/Conteudo/Organograma.aspx?Area=VIGIAGUA>>. Acesso em: 25 set. 2021.

GRUPO GRATT. Indústria e Tecnologia Ambiental. **Portal Tratamento de Água**, 2015. Disponível em: <<https://tratamentodeagua.com.br/artigo/qualidade-da-agua/>>. Acesso em: 08 jan. 2021.

IBGE. www.ibge.gov.br. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2020. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/25278-ibge-divulga-as-estimativas-da-populacao-dos-municipios-para-2019>>. Acesso em: 18 mai. 2020.

KASVI. **Site Kasvi**, 2019. Disponível em: <<https://kasvi.com.br/agua-potavel-a-importancia-do-controle->>



[microbiologico/#:~:text=Assim%2C%20o%20saneamento%20deficiente%20e,an%C3%A1lis e %20laboratorial%20para%20detect%C3%A1%20Dla.>](#). Acesso em: 15 de março 2021.

OPAS BRASIL. **OMS: 2,1 bilhões de pessoas não têm água potável em casa e mais do dobro não dispõem de saneamento seguro.** O relatório do Programa de Monitoramento Conjunto (JMP, na sigla em inglês), 12 jul. 2017.

PREFEITURA DO RJ. www.rio.rj.gov.br. Prefeitura da cidade do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: < <http://www.rio.rj.gov.br/web/vigilanciasanitaria/qualidade-da-agua> >. Acesso em: 20 jun. 2020.

ROCHA, E. S. *et al.* Análise Microbiológica da Água de Cozinhas e/ou Cantinas das Instituições de Ensino do Município de Teixeira de Freitas (BA). **Revista Baiana de Saúde Pública**, Teixeira de Freitas, v. 34, n. 3, p. 694-705, março 2011.

SNIS. **Ministério do Desenvolvimento Regional.** Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento, 2019. Disponível em: <<http://www.snis.gov.br/>>. Acesso em: 09 mar. 2021.

SOUSA, R.; SARDINHA, V. UOL. **Mundo Educação**, 2020. Disponível em: <<https://mundoeducacao.uol.com.br/biologia/agua-1.htm>>. Acesso em: 25 set. 2021.

YAMAGUCHI, M. U. *et al.* **Qualidade microbiológica da água para consumo humano em instituição de ensino de Maringá-PR.** O Mundo da Saúde, São Paulo, 20 junho 2013. 312-320.



CAPÍTULO 8

ATIVIDADE FUNGICIDA DA NANOEMULSÃO DE *SYZYGIUM AROMATICUM* (L.) MERR. & L.M.PERRY

Thaylanna Pinto de Lima
Danielly Fonseca
Ari Pereira de Araújo Neto
Mariana Oliveira Arruda
Victor Elias Mouchrek Filho
Thayson Rodrigues Lopes
Silvio Carvalho Marinho
Gustavo Oliveira Everton

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade fungicida das nanoemulsões (E/A) do extrato hidroalcoólico dos brotos de *Syzygium aromaticum*. Para obtenção do extrato hidroalcoólico executou-se o processo de maceração com solvente extrato etanol P.A 70% (v/v). As nanoemulsões foram obtidas pelo método de baixa energia de inversão de fases com a estabilidade termodinâmica avaliada por testes de estresse. Para atividade fungicida das nanoemulsões utilizou-se o ensaio de Diluição em Caldo e Semeadura em Agar para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM). A ação do produto biotecnológico foi testada frente a três cepas de fungos *Aspergillus niger*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium chrysogenum*. Para ação antifúngica da nanoemulsão do extrato hidroalcoólico a CIM obtida foi de 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *A. niger*, *C. gloeosporioides* e *P. chrysogenum*, respectivamente. Por outro lado, a CFM da nanoemulsão do extrato hidroalcoólico teve a seu desempenho em frente a *A. niger* de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em frente *C. gloeosporioides* que apresentou inibição em 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e em frente *P. chrysogenum* 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Por fim, este estudo aponta a nanoemulsão de *S. aromaticum* como fungicida alternativo no controle e combate de fungos patogênicos

PALAVRAS-CHAVE: Fungicida, *Syzygium aromaticum*, fitoquímica.

INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais para o tratamento de enfermidades é conhecida desde a pré-história. No Brasil, a introdução dessas plantas em rituais de cura vem desde a cultura indígena, permanecendo esse conhecimento empírico até os dias de hoje. Aproximadamente 66% da população brasileira sem acesso à medicina moderna faz uso de medicamentos populares, representando muitas vezes, o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos (MAZZARI&PRIETO,2014). Diante deste cenário, a população vem buscando tratamentos mais saudáveis e de baixo custo para tratar suas enfermidades. Embora a medicina moderna esteja bem desenvolvida na maior parte do mundo, a OMS reconhece que grande



parcela da população dos países em desenvolvimento depende da medicina tradicional para sua atenção primária (BRASIL, 2006).

O uso das plantas para fins medicinais tem despertado um grande interesse pelo conhecimento da composição química das plantas (SIMÕES, 2001). Em diversos estudos as plantas possuem diversos produtos biologicamente ativos, tendo respaldo que muitos se constituem em modelos para a síntese de um número significativos de fármacos. Pesquisadores admiram-se com a vasta variedade desses produtos, porém 19 dados mostram que apenas 15 a 17% das plantas foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal (MARTINS, 2010).

Dentre as plantas em destaque, está a espécie *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry, conhecida popularmente como cravo da Índia, tem a origem nas Filipinas e leste da África (PAHLOW, 2004). O nome cravo em português deriva da palavra latina *clavus*, que significa “prego”, devido a sua aparência física. No inglês o nome clove derivou do francês old clou, que está relacionado ao verbo unir -função exercida pelo prego (ORNELAS,2000). O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) é uma árvore, da família Myrtaceae adaptada ao clima africano e brasileiro (CARDOSO et al., 2007). Suas folhas possuem características ovais, aromáticas e tem de 7- 11 centímetros de comprimento (LORENZI et al., 2002). Outros autores a descrevem como originária da Índia, sendo também encontrado na Indonésia, Zanzibar e Ceilão, de característica alongada, medindo de 10 a 20 m de altura (LORENZI&MATOS, 2002; BANERJEE et al., 2006).

O uso de extratos vegetais e fitoquímicos de conhecida atividade antimicrobiana podem adquirir significado nos tratamentos terapêuticos. Desenvolvem-se inúmeros estudos, em diferentes países, para comprovar-lhes a eficácia (NUNAN et al., 1985; LOCHER et al., 1995; ANNAPURNA et al., 1999; DJIPA et al., 2000; FERESIN et al., 2001; KHAN et al., 2001; RAMESH et al., 2002). Muitas espécies vegetais têm sido usadas, pelas características antimicrobianas, através de compostos sintetizados pelo metabolismo secundário da planta. Estes produtos são reconhecidos por suas substâncias ativas, como é o caso dos compostos fenólicos.(NASCIMENTO et al., 2000).

Sua aplicação é facilitada através da formulação de nanoemulsões. Pesquisas recentes relatam que a formação de nanoemulsão contendo são usadas como estratégias para melhorar sua funcionalidade. As nanoemulsões consistem em uma dispersão muito fina, composta por uma fase de óleo (tal como triglicerídeos ou hidrocarbonetos) e uma fase aquosa (água ou água) que se apresentam como gotas com diâmetro menor que 100 nm. São constituídas por um



invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo, podendo o componente ativo de interesse estar dissolvido nesse núcleo e/ou adsorvido à parede polimérica. A retenção desses núcleos é regida por sua funcionalidade química, solubilidade, polaridade e volatilidade (GHARSALLAOUI et al., 2007) Acredita-se que estes sistemas tenham várias vantagens em relação às emulsões convencionais por se tratarem de sistemas de distribuição coloidal devido ao seu menor tamanho de partícula. As nanoemulsões parecem apresentar transparência óptica, funcionalidade aprimorada e estabilidade física, o que as tornaria muito atraentes para a biotecnologia etc. (ASSIS et al., 2012).

Deste modo, este estudo teve como objetivo avaliar a quantificação de fenólicos e flavonoides totais e avaliação da atividade fungicida do extrato hidroalcoólico e da nanoemulsão formulada com extrato hidroalcoólico obtido a partir dos botões florais de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia).

METODOLOGIA

Material vegetal

A coleta do material vegetal utilizado nesta pesquisa foi realizada no período de outubro a dezembro de 2020. *S. aromaticum* foram obtidos no município de São Luís, Brasil. Após a coleta, as espécies vegetais foram transportadas para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV / UFMA) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) para triagem, determinação do teor de água e secagem em estufa digital de ar convectivo FANEM 520.

Preparo do extrato hidroalcoólico

Para o preparo dos extratos hidroalcoólico utilizou-se 100g do material vegetal *in natura*. Empregou-se o processo de maceração com solvente extrato metanol P.A 70% (v/v) seguindo a proporção 1:10. A solução obtida após 7 dias foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida, após o processo o extrato foi seco para remoção do solvente residual para posteriores análises (HARBORNE, 1998).

Fenólicos totais

O teor de fenóis foi determinado para os óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteau (LUGASI et al., 1998; OLIVEIRA et al., 2009). Utilizou-se 5 mg do óleo essencial diluído em 1 mL de etanol. A esta solução foi adicionado 7 mL de água destilada, 800 µL do reagente Folin-Ciocalteu a 10% e 2,0 mL de

carbonato de sódio a 7,5%. A solução formada foi levada ao banho-maria a 50 °C por 5 min, retirada e deixada para esfriar; e, então, foi realizada a leitura em espectrofotômetro manual, em comprimento de 760 nm. Como referência, foi obtida uma curva analítica com o ácido tânico, que forneceu a equação da reta para a conversão da absorbância medida em miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato (mg EAT.g⁻¹).

O extrato hidroalcoólico foi diluído em etanol para obter soluções com concentração de 10 mg mL⁻¹. As umas alíquotas de 0,1 mL de cada solução foram adicionadas 7,0 mL de água, 0,8 mL do reagente de Folin-Ciocalteau (10% v/v) e 1,2 mL de solução aquosa de Na₂CO₃ a 20%. Após 2 horas, as absorbâncias das amostras foram medidas a 760 nm. Como referência, foi obtida uma curva analítica com o ácido tânico, que forneceu a equação da reta para a conversão da absorbância medida em miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de extrato (mg EAT.g⁻¹). A curva padrão foi expressa em mg L⁻¹ de ácido tânico.

Preparo das nanoemulsões

O preparo das nanoemulsões foi realizado de acordo com as metodologias adaptadas descritas por Lima et al. (2020), Sugumar et al. (2014), Kubitschek et al. (2014) e Rodrigues et al. (2014), observadas na tabela 1

Tabela 1-Formulações de nanoemulsões para o Extrato Hidroalcoólico de *Syzygium aromaticum*

| Identificação | Extrato hidroalcoólico (EH) | Tween 20 | H ₂ O |
|---------------|-----------------------------|----------|------------------|
| NEH 1 | 5% | 5% | 90% |
| NEH 2 | 5% | 10% | 85% |
| NEH 3 | 5% | 15% | 80% |

Fonte : Dados dos autores (2021).

O preparo das nanoemulsões foi realizado de acordo com as metodologias adaptadas descritas por Lima et al. (2020), Sugumar et al. (2014), Kubitschek et al. (2014) e Rodrigues et al. (2014), sendo observadas na Tabela 1.

A concentração do extrato (5% v/v) foram fixadas para a formulação. As quantidades necessárias de cada constituinte da fase (Extrato + Tween20) foram aquecidas a 65 ± 5 °C. A fase aquosa foi aquecida separadamente a 65 ± 5 °C, adicionada suavemente e misturada com a fase oleosa, proporcionando uma formulação primária, pelo método de inversão de fases. A homogeneização final foi conseguida utilizando um agitador magnético, no qual a formulação permaneceu em agitação constante a 6000 rpm, até atingir a redução da temperatura para 25 °C ± 2 °C.



Para comprovar a estabilidade, das nanoemulsões formulada foram submetidas a diferentes testes de estresse de acordo com a metodologia descrita por Shafiq et al., (2007). O experimento foi realizado em triplicado. As formulações aprovadas nos testes de estresse termodinâmico foram levadas para estudos de ação antifúngica.

Padronização do inóculo microbiano para ensaios de sensibilidade

Foram utilizadas três cepas de fungos: *Aspergillus niger* (ATCC 6275), *Colletotrichum gloeosporioides* (ATCC 96723), *Penicillium chrysogenum* (ATCC 10106). Estas foram previamente identificadas e confirmadas pelas provas bioquímicas. Culturas puras mantidas em ágar TSA foram repicadas para caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) e incubadas a 35 °C até atingirem fase exponencial de crescimento (4-6 h). Após esse período, as culturas tiveram sua densidade celular ajustada em solução salina 0,85% estéril, de modo a se obter uma turbidez comparável à da solução padrão de McFarland 0,5, o que resulta em uma suspensão microbiana contendo aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ de acordo com as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute.

Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração mínima (CFM)

Este ensaio avaliou a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) dos extratos hidroalcoólicos. O ensaio de CIM foi realizado empregando-se a técnica de diluição em caldo, proposta pela *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Primeiramente foram preparadas soluções do extrato utilizando-se Tween 20 a 2%, sendo preparadas diluições seriadas em caldo BHI para o ensaio fúngico, resultando nas concentrações de 10 a 1000 µg mL⁻¹. As nanoemulsões foram diluídas diretamente no meio de cultura.

A cada concentração foram adicionadas suspensões fúngicas contendo $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ das cepas. Os tubos foram incubados a 25°C por 24-48h para as cepas fúngicas. Foram realizados os controles de esterilidade e crescimento para o ensaio realizado. Após o período de incubação, foi verificada CIM do extrato, sendo definida como a menor concentração que visivelmente inibiu o crescimento fúngico (ausência de turvação visível). Ensaios realizados em triplicata.

Para o ensaio de CFM das diluições provenientes do caldo BHI que visivelmente inibiram o crescimento fúngico. As alíquotas foram inoculadas em Ágar Sabourad Dextrose (ASD) com posterior incubação a 35°C por 24h. A CFM foi determinada como a menor concentração que visualmente no ensaio de CIM apresentou inibição de crescimento e que nas culturas para os ensaios fungicidas também não apresentaram crescimento visível.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quantificação de fenólicos totais

Os resultados do teor total de fenólicos do extrato hidroalcoólico de *Syzygium aromaticum* estão apresentados na Tabela 2. O conteúdo fenólico total (CPT) do extrato hidroalcoólico foi expresso como equivalentes de ácido tânico (mg EAT / g de material vegetal) a equação da reta obtida foi $y = 0,0586x + 0,06$ ($R^2 = 0,9998$), onde y representa a absorbância e x a concentração equivalente de ácido tânico.

Tabela 2 - Quantificação de fenólicos em extrato hidroalcoólico de *Syzygium aromaticum*

| Fenólicos | Extrato Hidroalcoólico |
|--|------------------------|
| Total (mg EAT g ⁻¹) | 143,589 |
| Equação Linear (y = ax+ b) | y= 0,0586+0,06 |
| Coefficiente de Correlação (R ²) | 0,9998 |

Fonte : Dados dos autores (2021).

Conforme a Tabela 3, o estudo revelou a presença de compostos fenólicos resultando em um quantitativo positivo no extrato. Pode-se afirmar que através deste ensaio é possível prever uma boa atividade antioxidante, já em referência ao estudo de Teles et al. (2019).

A presença de compostos fenólicos está relacionada a propriedades antioxidantes, visto que os mesmos são estruturas químicas que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos, nas formas simples ou de polímeros, que os confere o poder antioxidante. Esses compostos podem ser naturais ou sintéticos. Quando presentes em vegetais podem estar em formas livres ou complexadas a açúcares e proteínas (ANGELO et al., 2007). No que tange as propriedades farmacológicas, pesquisas referentes ao potencial anticarcinogênico ou quimiopreventivo, antioxidante, antiagregante plaquetário e antitrombótico do cravo reforçam o uso popular desta espécie (BANERJEE et al., 2006; KUBATKA et al 2017).

Estabilidade termodinâmica

A Tabela 3 apresenta estudo da estabilidade termodinâmica das formulações de nanoemulsões de *Syzygium aromaticum*

Tabela 3 - Estudo da estabilidade termodinâmica das formulações de nanoemulsões com o Extrato Hidroalcoólico de *Syzygium aromaticum*

| Identificação | SF | AQ | CG | DCG | Estabilidade final |
|---------------|----|----|----|-----|--------------------|
| NEH 1 | - | - | - | + | - |
| NEH 2 | - | - | - | - | + |
| NEH 3 | - | + | - | - | - |

Fonte: Dados dos autores (2021).

Nota: SF- separação de fases ou cremeação em temperatura ambiente; AQ- separação de fases após aquecimento; CG- separação de fases ou cremeação após congelamento; DCG- separação de fases ou cremeação após descongelamento; + positivo; - negativo.

De acordo com a Tabela 3, foi determinada como resultado por meio das análises, que o melhor tensoativo foi exatamente Tween 20 apresentado uma maior sensibilidade quando se trata de atividade fungicida. Por meio do trabalho de Pontes&Silvania (2013) o parâmetro de seleção para a melhor concentração do Extrato Hidroalcoólico e tensoativo para as sínteses das nanoemulsões, foi a eliminação das concentrações que apresentaram separações de fases (instabilidade) das nanoemulsões, tendo como objetivo alcançar formulações mais estáveis. No caso das formulações utilizadas não apresentaram separações de fases, todavia quando as mesmas atingiram temperaturas mais altas e baixas, somente a formulação NEH2 mostraram-se estáveis para termos de aplicabilidade. Exatamente por essas nanoemulsões serem descritas como sistemas estáveis, justifica-se essa característica pelo seu aspecto translúcido, o tamanho reduzido das suas gotículas, o que garantem biodisponibilidade e a intensificação para determinadas atividades positivas na área da saúde, como atividade antioxidante e antimicrobiana (Gadioli, 2017).

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

A Tabela 4 apresenta a atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico e nanoemulsão formulada com Extrato Hidroalcoólico de *Syzygium aromaticum*

Tabela 4- Atividade antifúngica de *Syzygium aromaticum*

| | <i>Aspergillus niger</i> | | <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> | | <i>Penicillium chrysogenum</i> | |
|-------------|--------------------------|-----------------------|---------------------------------------|-----------------------|--------------------------------|-----------------------|
| | CIM | CFM | CIM | CFM | CIM | CFM |
| | $\mu\text{g mL}^{-1}$ | $\mu\text{g mL}^{-1}$ | $\mu\text{g mL}^{-1}$ | $\mu\text{g mL}^{-1}$ | $\mu\text{g mL}^{-1}$ | $\mu\text{g mL}^{-1}$ |
| EH | 100 | 250 | 250 | 300 | 250 | 300 |
| NEH2 | 50 | 100 | 50 | 100 | 100 | 250 |

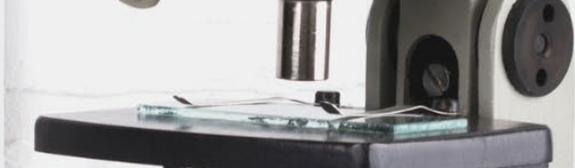
Fonte: Dados dos autores (2021).

Nota: EH, extrato hidroalcoólico; NEH2, nanoemulsão formulada com Extrato Hidroalcoólico; CIM, Concentração Inibitória Mínima; CFM, Concentração Fungicida Mínima

Conforme a Tabela 4, Para o extrato hidroalcoólico, o teste de Concentração Inibitória Mínima apresentou o resultado de inibição ao crescimento microbiano de *A. niger* a partir de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, de *C. gloeosporioides* a partir de $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ e de *P. chrysogenum* a partir de $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ tendo a melhor performance no fungo *A. niger*. Para a nanoemulsão do extrato hidroalcoólico o resultado obtido foi de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$, $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ para *A. niger*, *C. gloeosporioides* e *P. chrysogenum*, respectivamente. A nanoemulsão do extrato hidroalcoólico teve seu melhor desempenho em frente a *Aspergillus niger* $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ e em frente ao *Colletotrichum gloeosporioides* que apresentou inibição em $50 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Em estudo realizado por Meneze et al. (2009) sobre a atividade antifúngica de *Syzygium aromaticum* os autores relataram que CIM a partir da concentração de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ considera se uma boa atividade antifúngica e a partir de Entre 101 e $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ Moderada atividade antifúngica como podemos ver na tabela 5 nossos resultados vão de boa atividade antifúngica para excelente devido a sua baixa concentração dessa maneira podemos considera *Syzygium aromaticum* um bom inibidor. Corroborando com estudos anteriores dos autores Neto et al. (2017) e do Ascensão & Mouchrek filho (2013).

O teste para Concentração Fungicida Mínima apresentou boa eficácia. no extrato hidroalcoólico o melhor resultado foi em frente *A. niger* com ação fungicida a partir de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, ja a nanoemulsão do extrato hidroalcoólico teve a seu melhor desempenho em frente a *Aspergillus niger* e frente ao *Colletotrichum gloeosporioides* que apresentou inibição em $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ ambos. No estudo realizado por Neto et al. (2017) e do Costa et al. (2011) corroboram com os resultados apresentado neste trabalho provando a eficiência *Syzygium aromaticum*.



Em suma, as nanoemulsões neste trabalho teve o desempenho mais eficiente. Várias pesquisas recentes relataram a formação de nanoemulsões como uma estratégia para melhorar a funcionalidade e a propriedade química dos seus constituintes, uma das eficácias incorporadas em uma nanoemulsões é por possuir particulares menores que aumenta a facilitação da permeabilidade na membrana do fungo. Sendo assim melhorando sua capacidade antifúngica.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foi possível comprovar os metabolismos secundários presentes nos botões de *S. aromaticum* fato que influência na inibição dos micro-organismos, potencial farmacológico, propriedades biológicas e químicas. Foi possível demonstrar os teores de fenólicos e flavonoides totais sendo significativos. O uso de *S. aromaticum* para fins medicinais é muito significativo por sua ampla aplicabilidade e sua eficiência no produto biotecnológico nanoemulsão utilizado neste estudo frente a fungos patogênicos, mostrando ser uma alternativa ao mercado atual para o combate e controle de fungos patogênicos.

REFERÊNCIAS

- ADARAMOLA, B; ONIGBINDE, A. Effect of extraction solvent on the phenolic content, flavonoid content and antioxidant capacity of clove bud. **IOSR J Pharm Biol Sci**, v. 11, n. 3, p. 33-8, 2016.
- AFFONSO, R. S. et al. Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo da Índia. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.
- ANGELO, P.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos-uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 66, n. 1, p. 01-09, 2007
- ASCENÇÃO, V. Extração, caracterização química e atividade antifúngica de óleo essencial *Syzygium aromaticum* (cravo da Índia). **Cadernos de Pesquisa**, 2013.
- ASSIS, L. de et al. Revisão: Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 99-109, 2012.
- BANERJEE, S. et al. Clove (*Syzygium aromaticum*), a potential chemopreventive agent for lung cancer. **Carcinogenesis**, v.77, n.8, p.1645-54, 2006.
- Brasil, M. S. (2006). Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. **Brasília: Ministério da Saúde**.
- COSTA, J. da et al. Perfil fitoquímico e avaliação da atividade antimicrobiana de extratos aquoso e etanólico de folhas de *Cecropia pachystachya*. 2018.
- DOWLD, L.E. Spectrophotometric determination of quercetin. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 7, p.1184-1187, 1959.



DE LIMA, T. et al. Desenvolvimento de nanogel de copaifera reticulata sobre a lesão muscular em ratos usando fonoforese. **Saúde e Pesquisa**, v. 13, n. 1, 2020.

DA SILVA, N. et al. Triagem fitoquímica de plantas de Cerrado, da área de proteção ambiental municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, v. 6, n. 2, 2010.

BESSA, N. G. F. et al. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde-Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 692-707, 2013.

ALENCAR M., T. et al. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de Candida albicans. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 38, n. 3, p. 184-91, 2009.

GRAÇA, M. et al. Avaliação do potencial fungitóxico do óleo essencial de Syzygium aromaticum (L.) Merr & Perry (cravo-da-índia). **Tecno-Lógica**, v. 11, n. 1, p. 11-14, 2007.

FREDERICE, R.; FERREIRA, A.P.G.; GEHLEN, M.H. Molecular Fluorescence in Silica Particles Doped with Quercetin-Al³⁺ Complexes. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 7, p. 1213-1217, 2010.

GADIOLI, I. Obtenção, caracterização química, propriedades antioxidantes e antimicrobianas de extratos de polpas, sementes e folhas de passifloras silvestres para formulação de nanoemulsões. 2017.

GHARSALLAOUI, A; et al. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food research international**, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.

HEMAISWARYA, S.; DOBLE, M. Synergistic interaction of eugenol with antibiotics against Gram negative bacteria. **Phytomedicine**, v. 16, n. 11, p. 997-1005, 2009.

KUBITSCHKE-KM, J.; ZERO, J. Development of jojoba oil (Simmondsia chinensis (Link) CK Schneid.) based nanoemulsions. **Lat. Am. J. Pharm**, v. 33, n. 3, p. 459-63, 2014.

KUBATKA, P. et al. Antineoplastic effects of clove buds (Syzygium aromaticum L.) in the model of breast carcinoma. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 21, n. 11, p. 2837-2851, 2017.

LUGASI, A. et al. Antioxidant and free radical scavenging properties of squeezed juice from blackradish (*Raphanus sativus* L. var *niger*) root. **Phytotherapy Research**, v.12, n. 7, p. 502-506, 1998.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p

LYRA, L. Desenvolvimento de nanoemulsão de geraniol e óleo essencial da palmarosa (Cymbopogon martinii) e sua ação inibitória sobre linhagens de Cutibacterium acnes. 2019.

MAEDA, J. et al. Craveiro-da-índia: características físicas das sementes e seus efeitos na germinação e desenvolvimento vegetativo. **Bragantia**, v. 49, n. 1, p. 23-36, 1990.



MAZZARI, A. L. D. A.; PRIETO, J. Monitoramento de interações farmacocinéticas entre plantas medicinais e fitoterápicos e os medicamentos convencionais pelo sistema de farmacovigilância brasileiro. **Infarma**, v. 26, p. 193-198, 2014.

MOREIRA, A.; MANCINI-FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 4, p. 411-424, 2004.

MARTINS, A. A. et al. Atividade antibacteriana do óleo essencial do manjeriço frente a sorogrupos de *Escherichia coli* enteropatogênica isolados de alfaces. **Ciência Rural**, v. 40, n. 8, p. 1791-1796, 2010.

NETO, L. et al. avaliação da ação antifúngica do óleo essencial de *syzygium aromaticum* sobre *aspergillus flavus*. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 9, n. 11, 2018.

OLIVEIRA, A. C. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

ORNELAS, K.. **The Cambridge world history of food**. Cambridge University Press, 2000.

OLIVEIRA, N. et al. Análise fitoquímica, citotóxica e antimicrobiana do extrato bruto etanólico das folhas da espécie *Ambelania acida* Aublet (Apocynaceae). **Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)**, v. 6, n. 1, p. 20-25, 2016.

PAOLI, S. et al. Effects of clove (*Caryophyllus aromaticus* L.) on the labeling of blood constituents with technetium-99m and on the morphology of red blood cells. **Brazilian archives of biology and technology**, v. 50, n. spe, p. 175-182, 2007.

PULLE, D. A; **Flora of Suriname** 2 ed., Vol. III part. 2, Vereeniging Koloniaal Instituut te Amsterdam, 1942.

PARK, Y. et al. Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: Evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. **Ciência rural**, v. 32, n. 6, p. 997-1003, 2002.

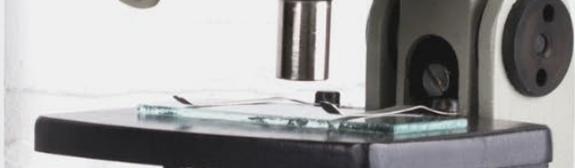
PEREIRA, A. et al. Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 887-893, 2008.

PARK, M. et al. Antifungal activities of the essential oils in *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry and *Leptospermum petersonii* Bailey and their constituents against various dermatophytes. **The Journal of Microbiology**, v. 45, n. 5, p. 460-465, 2007.

PONTES, S. et al. Desenvolvimento de nanoemulsões de óleos essenciais incorporadas em filme de metilcelulose para uso em alimentos. 2013.

RODRIGUES, E. et al. Development of a larvicidal nanoemulsion with Copaiba (*Copaifera duckei*) oleoresin. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 6, p. 699-705, 2014.

RODRIGUES, K. et al. Prospecção fitoquímica e atividade moluscicida de folhas de *Momordica charantia* L. **Cadernos de Pesquisa**, v. 17, n. 2, 2010.



SUGUMAR, S. et al. Nanoemulsion of eucalyptus oil and its larvicidal activity against *Culex quinquefasciatus*. **Bulletin of entomological research**, v. 104, n. 3, p. 393-402, 2014.

SHAFIQ, S. et al. Development and bioavailability assessment of ramipril nanoemulsion formulation. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 66, n. 2, p. 227-243, 2007.

SIMÕES, C. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2001.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Revisão das II Diretrizes Brasileira de Cardiologia para o Diagnóstico e o Tratamento da Insuficiência Cardíaca. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, 2002

TELES, Y. C. F.; SANTOS D. W.; LIMA, E. M. Evidências da relevância fitoquímica e biológica da família myrtaceae e do gênero *Syzygium*. **CONAPESQ**, p. 1-388-416.

WOISKI, R.G.; SLATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

CAPÍTULO 9

CONTEÚDO FENÓLICO TOTAL E ATIVIDADE LARVICIDA DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* LINN FRENTE *AEDES AEGYPTI*

Thércia Gabrielle Teixeira Martins
Danielly Fonseca
Mayra Fernanda Froes Rodrigues Ferreira
Roberto Pereira Santos
Ari Pereira de Araújo Neto
Liane Batista da Cruz Soares
Victor Elias Mouchrek Filho
Gustavo Oliveira Everton

RESUMO

Este estudo teve por objetivo avaliar o conteúdo fenólico total e a atividade larvicida do óleo essencial (OE) das folhas de *Rosmarinus officinalis* Linn. frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti*. O OE foi extraído por hidrodestilação a 100°C por 3 horas. O conteúdo fenólico total foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. O ensaio da atividade larvicida avaliou a letalidade do OE frente ao *Aedes aegypti* pelo método de Probit. O OE obtido apresentou um quantitativo de compostos fenólicos totais de 74,03 mg EAT g⁻¹. A atividade larvicida do OE apresentou a CL₅₀ de 22,36 mg L⁻¹, logo classificado como ativo. Por fim, de acordo com os resultados o OE estudado possui atividade larvicida satisfatória, demonstrando-se eficiente no combate e controle das larvas do mosquito transmissor da dengue.

PALAVRAS-CHAVE: Bioproduto; Óleo essencial; Larvicida; *Rosmarinus officinalis*.

INTRODUÇÃO

Originário do continente africano, o *Aedes aegypti* é o mosquito transmissor de doenças nomeadas como arboviroses, tais como: febre amarela, dengue, chikungunya e zika. Estas doenças vêm causando sérios problemas de saúde pública, principalmente em países subdesenvolvidos. O *A. aegypti* apresenta disseminação e sobrevivência em ambientes urbanos, tendo como criadouros principais aos reservatórios de água parada, isso favorece potencialmente a rápida proliferação da espécie devido à possibilidade de reprodução e disponibilidade de fontes de alimentação (ZARA et al., 2016).

No Brasil, para o primeiro mês do ano de 2019, foram registrados 59.557 casos prováveis de Dengue, Chikungunya e Zika, sendo que para o mesmo período em 2018, foram registrados 31.471 casos prováveis. Havendo um aumento de quase o dobro de casos de um ano para o outro (BRASIL, 2019). O vírus da dengue pertence ao gênero Flavivirus e à família Flaviviridae, apresentando quatro sorotipos denominados DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4, sendo transmitido por mosquitos fêmeas principalmente da espécie *A. aegypti* (MOURA et al.,



2021). A dengue clássica tem evolução normalmente benigna e como sintomas mais comuns podem-se citar febre alta (39 a 40° C) cefaleia, cansaço, mialgia e fadiga. No caso da dengue hemorrágica, ocorrem alterações na permeabilidade vascular e cascata de coagulação sanguínea. Nos casos de complicações, a dengue pode evoluir para o choque hipovolêmico e óbito, sendo essa considerada a forma mais grave da doença (OCHA, CASANOVA & DÍAS, 2015).

Ainda não foram desenvolvidos medicamentos para o tratamento e nenhuma vacina eficaz para uso humano. Por se tratar de uma infecção por vetor, têm-se investido no controle dos mosquitos vetores através de inseticidas químicos. Inseticidas são resumidamente substâncias químicas ou biológicas utilizadas para controlar insetos danosos seja no seu estado larval ou adulto. Para isso além da toxicidade frente ao agente agressor, os inseticidas devem apresentar preferencialmente eficácias em baixas concentrações, baixas toxicidades em mamíferos e animais superiores, ausência de fitotoxicidade e biodegradabilidade (GARCEZ et al., 2013).

Porém estas medidas vêm tornando-se cada mais difíceis devido ao uso contínuo de inseticidas químicos sintéticos que vem causando resistência desses mosquitos (SILVA,2019), além de terem um impacto sobre o ambiente perturbando o equilíbrio ecológico (TAKAGI et al., 2020). Torna-se necessário, portanto, a busca por produtos alternativos, principalmente aqueles baseados em recursos naturais explorados de forma sustentável visando o controle da densidade populacional das larvas (SILVA, 2019).

As plantas medicinais têm atraído a atenção de pesquisadores do mundo inteiro, por suas propriedades medicinais e organolépticas, possuem substâncias biologicamente ativas, podendo ser usadas para fins terapêuticos ou para fornecer precursores para a síntese química farmacêutica (EVERTON et al., 2020). E estas são produtoras de óleos essenciais, que se originam a partir do metabolismo secundário das plantas, sendo extraídos de flores, botões, folhas, ramos, cascas, sementes, frutos, raízes e rizomas (SARTO & JÚNIOR, 2014).

Os óleos essenciais possuem diversas propriedades como antimicrobianas, antioxidantes, antissépticas e larvicida, essas propriedades estão relacionadas aos seus constituintes químicos, o constituinte em maior quantidade irá ditar a propriedade que o óleo essencial irá possuir (SOARES et al., 2016). Por serem lipofílicos, seus constituintes podem integrar-se às estruturas da membrana celular, causando alterações na permeabilidade, inativação de componentes intracelulares e de enzimas. Os componentes majoritários dos óleos



essenciais (OE's) podem não ser o único fator responsável pela atividade inerente aos OE, mas as interações entre esses e os constituintes menores nos óleos essenciais também são importantes (CHOUHAN, SHARMA & GULERIA, 2017). Além disso, possuem eficácia em pequenas concentrações, grande biodegradabilidade e biocompatibilidade o que faz com que possam ser agregados a outros compostos (DA SILVA et al., 2020).

Dentre as plantas produtoras de óleos essenciais destaca-se *Rosmarinus officinalis* Linn., popularmente conhecido como alecrim, pertencente à família Lamiaceae. É uma planta aromática cultivada em todo o mundo (DE MACEDO et al., 2020). Ao longo dos séculos, *R. officinalis* tem sido usado em medicamentos populares como antiespasmódico, diurético, antiepilético, carminativo, cólica renal, antirreumático e expectorante; bem como para diabetes, dismenorreia, doenças cardíacas e para o alívio de doenças respiratórias (GONZÁLES-MINERO, BRAVO DÍAZ & AYALA-GÓMEZ, 2020).

Desta forma, este estudo teve por objetivo avaliar o conteúdo fenólico total e atividade larvicida frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti* do óleo essencial obtido das folhas de *Rosmarinus officinalis* Linn.

METODOLOGIA

Material vegetal

Foram adquiridas as folhas de *Rosmarinus officinalis* Linn (Produtos Naturais Muniz, LTDA Distribuidora), sendo transportadas para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais da Universidade Federal do Maranhão (LOEPAV/UFMA).

Extração do óleo essencial

Para a extração de óleo essencial foi aplicada a técnica de hidrodestilação com um extrator de vidro Clevenger acoplado a um balão de fundo redondo acoplado a uma manta aquecedora elétrica como fonte geradora de calor. Foram utilizados 100g do material vegetal, adicionando-se água destilada (1:10). O processo foi conduzido a 100°C durante 3 horas e o óleo essencial extraído foi coletado. O óleo essencial foi seco por percolação com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e centrifugado. Essas operações foram realizadas em triplicatas e as amostras armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração de 4°C. Posteriormente submetidas às análises.



Conteúdo fenólico total

A determinação dos compostos fenólicos totais do óleo essencial foi realizada com adaptação do método de Folin-Ciocalteu (WATERHOUSE, 2002). Utilizou-se 5 mL do óleo essencial diluído em 1 mL de etanol. A esta solução foi adicionada 3 mL de água destilada, 500 μL do reagente Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de carbonato de sódio a 20%. A solução formada foi levada ao banho-maria a 50 °C por 5 min, retirada e deixada para esfriar; e, então, foi realizada a leitura em espectrofotômetro manual, em comprimento de 760 nm. A curva padrão foi expressa em mg L^{-1} de ácido tânico.

Atividade larvicida

Os ovos *Aedes aegypti* foram coletados na Universidade Federal do Maranhão, Campus Bacanga em São Luís/MA, através de armadilhas denominadas ovitrampas. Estas consistem de baldes marrons (500 mL), de polietileno, com 1 mL de levedura de cerveja e 300 mL de água corrente e inserida duas palhetas de Eucatex para a ovoposição do mosquito. As armadilhas foram inspecionadas semanalmente para a substituição das palhetas e recolhimento dos ovos e encaminhados para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV/UFMA) do Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão – UFMA.

Inicialmente, os ovos do *Aedes aegypti* foram colocados para eclodir a temperatura ambiente em um aquário circular de vidro contendo água mineral. A identificação da espécie seguiu a metodologia proposta por Forattini (1962). As larvas obtidas foram alimentadas com ração de gato conforme a metodologia de Silva (1995) até atingirem o terceiro e quarto estágio, idade em que foram feitos os experimentos.

Os testes para atividade larvicida foram realizados de acordo com a metodologia adaptada proposta por Silva (2006). Inicialmente, uma solução mãe de 100 mg L^{-1} do OE foi preparada e diluída em 2% de solução DMSO. Foram preparadas cinco diluições nas concentrações 10, 20, 50, 70 e 90 mg L^{-1} . 10 larvas foram adicionadas em cada concentração na proporção de 1 mL/larva.

Todos os testes foram realizados em triplicata e como controle negativo uma solução formada por DMSO 2%, e como controle positivo, uma solução de temephos (O,O',O'-tetramethyl O,O'-tiodi-p-phenylene bis (fosfotioilato) a 100 ppm, equivalente à concentração utilizada pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) para o controle de larvicida do vetor, além de Novaluron (\pm -1-[3-cloro-4-(1-1-3- trifluoro-2-trifluorometoxiethoxy) fenil-3-(2,6-difluorobenzoyl) ureia a 0,02 mg L^{-1} , dose adotada pela ureia adotada pelo Ministério da Saúde,

que indica por quem na faixa de 0,01 a 0,05mg L⁻¹. Após 24 horas, a contagem de vivos e mortos foi realizada, e as larvas que não reagiram ao toque foram consideradas mortas após 24 horas do início do experimento. A análise estatística dos dados para o teste de toxicidade foi realizada de acordo o método de Finney (1952).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conteúdo fenólico total

O resultado do teor total de fenólicos do óleo essencial está apresentado na Tabela 1. O conteúdo fenólico total foi expresso como equivalentes de ácido tânico (mg EAT / g de material vegetal).

Tabela 1. Quantificação do conteúdo fenólicos totais (CFT) do óleo essencial.

| Óleo essencial | CFT mg EAT g ⁻¹ | Linear | R ² |
|-------------------------------------|-------------------------------|--------------------|----------------|
| <i>Rosmarinus officinalis</i> Linn. | 74,03 | y= 0,0586 x + 0,06 | (0,9980) |

Fonte: Autores, 2021.

As folhas utilizadas no presente estudo de *Rosmarinus officinalis* apresentaram uma quantidade relevante de compostos fenólicos de 74,03 mg EAT g⁻¹ o que se torna de grande relevância já que os fenólicos são frequentemente associados a vários efeitos positivos à saúde, responsáveis pela sua ação antioxidante e anti-inflamatória (MAFRA et al., 2020). Tiuzzi et al. (2016) em seu estudo relataram propriedades antioxidantes para *Rosmarinus officinalis* e destacaram a importância como conservante de alimentos e estas propriedades se devem especialmente aos seus compostos fenólicos. Soares (2020) ao analisar o teor de compostos fenólicos em extratos de *R. officinalis* in natura e desidratado, relatou altas concentrações em *R. officinalis* de 0,996 mg EAG⁻¹ mL para o extrato da erva desidrata e 0,630 mg EAG⁻¹ mL para o extrato da erva in natura, observando que as ervas desidratadas possuem uma maior extração de fenólicos, em virtude de a desidratação aumenta a solubilidade havendo uma maior extração de fenólicos. De acordo com Silva et al. (2011), podem ser encontrados três grupos de compostos fenólicos em *Rosmarinus officinalis*, como diterpenos fenólicos, flavonoides e ácidos fenólicos.

Conforme Gobbo-Neto (2007) vários fatores que podem interferir no conteúdo de compostos fenólicos na nas plantas, dentre os quais se destacam as condições ambientais (sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, poluição atmosférica) e as agrônômicas (variedade genética, adição de nutrientes, danos mecânicos,

ataques de patógenos) e, ainda, os diferentes métodos de extração, o que torna difícil comparar os resultados entre os estudos (SHIMANO, 2019).

Atividade larvicida

A Tabela 2 apresenta a mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* nas concentrações do óleo essencial com cálculo da CL_{50} .

Tabela 2. Concentração letal 50% para ação do óleo essencial frente *Aedes aegypti*.

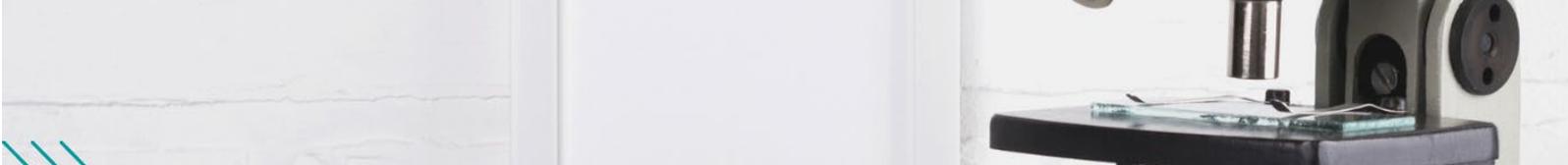
| Óleo essencial | (CL_{50}) mg L ⁻¹ |
|-------------------------------------|----------------------------------|
| <i>Rosmarinus officinalis</i> Linn. | 22,36 |

Fonte: Autores, 2021.

Conforme Dias&Moraes (2014), o potencial larvicida é classificado de acordo com os critérios baseados na concentração letal (CL), os OE's que obtém $CL_{50} > 100 \text{ mg L}^{-1}$, são considerados não ativos, os que obtém $CL_{50} < 100 \text{ mg L}^{-1}$ são considerados ativos e os que obtém $CL_{50} < 50 \text{ mg L}^{-1}$ são altamente ativos. Portanto, o OE de *R. officinalis* mostrou ação larvicida altamente eficiente, por manter a CL_{50} abaixo dos 50 mg L^{-1} , incentivando seu potencial e uso. O bioensaio não resultou na formação de nenhuma pupa ou de qualquer intermediário, resultado em mortalidade de larvas completas. Os ensaios de controle também não resultaram em nenhuma mortalidade indicando os efeitos inócuos do solvente (MAFRA et al., 2020).

Os resultados do presente estudo corroboram com a literatura. Prajapati et al. (2005), relataram propriedades larvicidas para o OE de *R. officinalis*, onde observaram a CL_{50} de $24,1 \text{ mg L}^{-1}$. Munusamy et al. (2016), relataram atividade larvicida e ovicida para o extrato etanólico e hexanos de *R. officinalis*. Conti et al. (2010) em seu estudo, relataram para o OE de *R. officinalis* 51,7% de mortalidade frente as larvas do mosquito *Aedes albopictus*. Freitas et al. (2010) $28,8 \text{ mg mL}^{-1}$. Govindarajan (2010) em suas pesquisas observaram o potencial de atividade larvicida do OE de *R. officinalis* com a CL_{50} de 71,98 para *A. subpictus*.

Quando o OE possui atividade larvicida, esta é atribuída aos constituintes majoritários presentes no OE (FUJIWARA et al., 2017). Conforme Fernandes et al. (2013) os constituintes majoritários do óleo essencial de *R. officinalis* são 1,8-cineol (44,0%), cânfora (16,1%), β -mirceno (11,1), α -pineno (9,4%); verbenona (4,1%), borneol (3,5%) e canfeno (3,3%), ainda, segundo Conti et al. (2010), OE com essas substâncias são descritos como agentes larvicidas. A variabilidade de seus constituintes químicos está associada a fatores sazonais e de manejo, tanto para a extração e armazenamento (DA SILVA, 2014).



Segundo Rattan (2010), os OE's e seus constituintes afetam os processos bioquímicos, que especificamente perturbam o equilíbrio endócrino dos insetos, eles podem ser neurotóxicos ou podem atuar como reguladores de crescimentos de inseto, interrompendo o processo normal de morfogênese e esse modo de ação neurotóxica ocasiona em artrópodes hiperatividade seguido por hiperexcitação levando rapidamente à queda e imobilização.

Furtado et al. (2005) em seu estudo destacaram que os componentes terpênicos, álcoois e aldeídos dos óleos essenciais são os principais responsáveis pela atividade larvicida. Simas et al. (2004) ao pesquisarem produtos naturais no controle da dengue identificaram diversas classes de terpenos e ressaltaram que algumas características estruturais químicas são importantes para a atividade biológica e destacaram quanto a importância da lipofilia de terpenos para a atividade larvicida em *Aedes aegypti*, pois quanto maior a lipofilia maior será a penetração no tegumento do inseto.

Nascimento & Reis Filho (2016) relataram que o efeito inseticida pode ser decorrente de um somatório de substâncias presentes, que apesar de se encontrarem em concentrações menores, também possuem atividade inseticida. Conforme Dias & Moraes (2014) o potencial tóxico dos OE's e os seus compostos frente ao *Aedes aegypti* pode variar significativamente de acordo com os fatores intrínsecos e extrínsecos, espécies de plantas, partes de plantas, idade de fabricação, quimiotipos e as condições geográficas (tal como temporada de ocorrência, precipitação, porcentagem de umidade, temperatura, luz solar, e altitude), em que a planta foi recolhida, a fonte de larvas, e os métodos utilizados, em geral, para induzir diferentes respostas larvais.

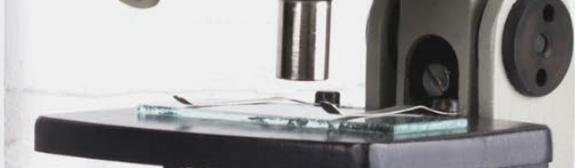
CONSIDERAÇÕES FINAIS

O óleo essencial apresentou um quantitativo importante de compostos fenólicos, visto que estes são frequentemente a benefícios de saúde. A atividade larvicida do óleo essencial revelou-se eficiente frente às larvas de *Aedes aegypti*, sendo relevante e interessante no controle e combate às larvas do mosquito vetor de quatro sorotipos de flavivírus.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de vigilância em saúde. **Boletim Epidemiológico**, v. 50, n. 5, 2019.

CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; GULERIA, S. Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. **Medicines**, v. 4, n. 3, p. 58, 2017.



CONTI, B. et al. Essential oil composition and larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Parasitology research**, v. 107, n. 6, p. 1455-1461, 2010.

SILVA R., R. **ESTUDO FITOQUÍMICO E DA ATIVIDADE MICROBIOLÓGICA, DE CITOXICIDADE, LARVICIDA E REPELENTE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA LAMIACEAE (LAMIALES)**. 2014. Tese de Doutorado. UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ.

SILVA, R. T. et al. Propriedades biológicas da levana de *Bacillus subtilis* natto e do óleo essencial de canela para aplicação em formulações cosmeceúicas. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 23009-23024, 2020.

MACEDO, L. M. et al. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L., syn *Salvia rosmarinus* Spenn.) E suas aplicações tópicas: uma revisão. **Plantas** , v. 9, n. 5, pág. 651, 2020.

DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae) larvicides. **Parasitology research**, v. 113, n. 2, p. 565-592, 2014.

EVERTON, G. O. et al. Óleo essencial das cascas descartadas do fruto de *Hymenaea courbaril* L. como larvicida frente *Aedes aegypti*. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, p. e1389108437-e1389108437, 2020.

FERNANDES, C. P. et al. HLB value, an important parameter for the development of essential oil phytopharmaceuticals. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 1, p. 108-114, 2013.

FINNEY, D. J. **Análise probit: um tratamento estatístico da curva de resposta sigmóide** . Editora da universidade de Cambridge, Cambridge, 1952.

FREITAS, F. P. et al. Comparative larvicidal activity of essential oils from three medicinal plants against *Aedes aegypti* L. **Chemistry & biodiversity**, v. 7, n. 11, p. 2801-2807, 2010.

FORATTINI, O. P. Entomologia médica: 3º volume. In: **Entomologia médica: 3º volume**. 1965. p. 4416-4416.

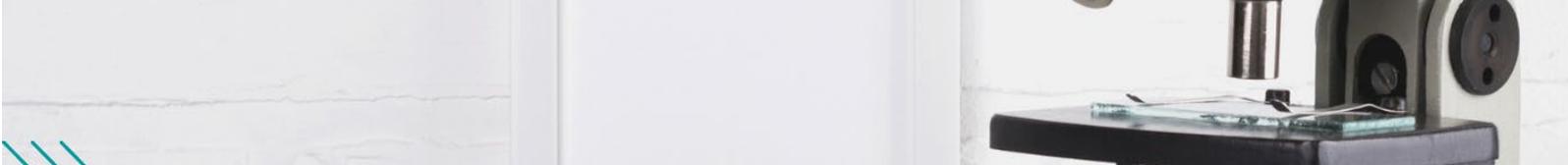
FUJIWARA, G. M. et al. Evaluation of larvicidal activity and ecotoxicity of linalool, methyl cinnamate and methyl cinnamate/linalool in combination against *Aedes aegypti*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 139, p. 238-244, 2017.

FURTADO, R. F. et al. Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 843-847, 2005.

GOBBO-NETO, L. & LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GONZÁLEZ-MINERO, F. J.; BRAVO-DÍAZ, L.; AYALA-GÓMEZ, A. *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary): Uma planta antiga com utilizações na saúde pessoal e cosmética. **Cosméticos** , v. 7, n. 4, pág. 77, 2020.

GOVINDARAJAN, M. et al. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Mentha spicata* (Linn.) against three mosquito species. **Parasitology research**, v. 110, n. 5, p. 2023-2032, 2012.



MAFRA, N. S. C. et al. Potenciais biológicos do óleo essencial de *Ocimum basilicum* Linn coletada na região Pré-Amazônica do Maranhão. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e203985596-e203985596, 2020.

MOURA, P. F. et al. Atividade larvicida de extratos de *Diplodia pinea* frente à *Aedes aegypti*. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 10, n. 2, pág. e6710212295-e6710212295, 2021.

MUNUSAMY, R. G. et al. Ovicidal and larvicidal activities of some plant extracts against *Aedes aegypti* L. and *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Asian pacific journal of tropical disease**, v. 6, n. 6, p. 468-471, 2016.

NASCIMENTO, A. A.; REIS FILHO, J. B. VEM. **Atividade larvicida do óleo essencial de cravoda-índia: Extração, caracterização e atividade larvicida frente ao mosquito Aedes aegypti**. Brasil: Editora Novas Edições Acadêmicas, 2016.

OCHOA, M. R. O.; CASANOVA, M. C. M.; DÍAZ, M. Á. D. Análisis sobre el dengue, su agente transmisor y estrategias de prevención y control. **Revista Archivo Médico de Camagüey**, v. 19, n. 2, p. 189-202, 2015.

PRAJAPATI et al. Atividade inseticida, repelente e dissuasora de oviposição de óleos essenciais selecionados contra *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*. **Bioresour. Technol.**, 98 p. 1749-1757, 2005.

RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop protection**, v. 29, n. 9, p. 913-920, 2010.

SARTO, M. P. M. & ZANUSSO JUNIOR, G. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. **Revista UNINGÁ Review**, v. 20, n. 1, 2014.

SHIMANO, M. Y. H. **Ação antioxidante de extratos de especiarias e suas misturas binárias e ternárias sobre a estabilidade oxidativa de óleo de soja**. 2019. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

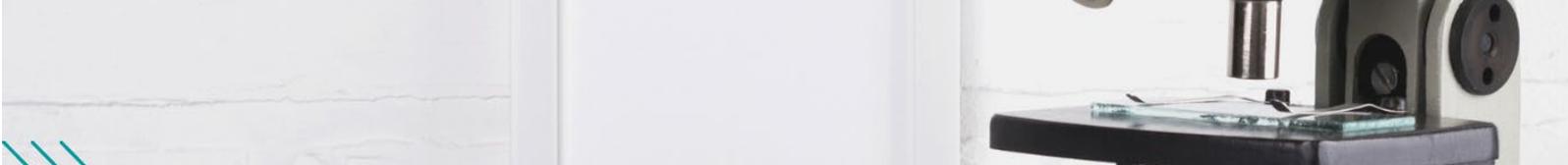
SILVA, H. H. G. et al. Idade fisiológica dos ovos de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae). 1995.

SILVA, W. J. Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no estado de Sergipe contra *Aedes aegypti* Linn. 2006.

SILVA, A. M. O.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; CARVALHO, E. B. T.; LIMA, A.; NOVOA, A. V. & MANCINI-FILHO, J. Efeito do extrato aquoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre o estresse oxidativo em ratos diabéticos. **Revista de Nutrição, Campinas**, v. 24, n. 1, p. 121-130, 2011.

SILVA, J. M. S. Encapsulamento do óleo essencial da *Lippia alba* em nanopartículas de poli-ε-caprolactona (PCL) para avaliação da estabilidade e atividade larvicida contra o *Aedes aegypti*. 2019.

SIMAS, N. K. et al. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue: atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química nova**, v. 27, p. 46-49, 2004.



SOARES, V. G. et al. Teor de compostos fenólicos e análises físico-químicas em diferentes condimentos in natura e desidratado de alecrim, hortelã, manjeriço e orégano. 2020.

TAKAGI, B. A. et al. Efeito larvívica e ovívica de extratos de *Crotalaria pallida* sobre o vetor *Aedes aegypti*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 23060-23074, 2020.

TIUZZI, M.; FURLAN, M. R. Atividade antioxidante do alecrim. Revista Eletrônica Thesis, São Paulo, n. 26, p. 99-114, 2º semestre, 2016.

WATERHOUSE, A. L. Determinação de fenólicos totais. **Protocolos atuais em química analítica de alimentos**, v. 6, n. 1, pág. 11. 1.1-11. 1.8, 2002.

ZARA, A. L. S. A. et al. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, p. 391-404, 2016.

CAPÍTULO 10

INTERAÇÃO PLANTA-FORMIGAS: EFEITOS SOBRE O SUCESSO VEGETATIVO E REPRODUTIVO DE *Turnera subulata* Sm. (TURNERACEAE)

DOI: 10.47402/ed.ep.c2022107510108

Kamila Ermina Felix da Silva
Veralucia Santos Barbosa

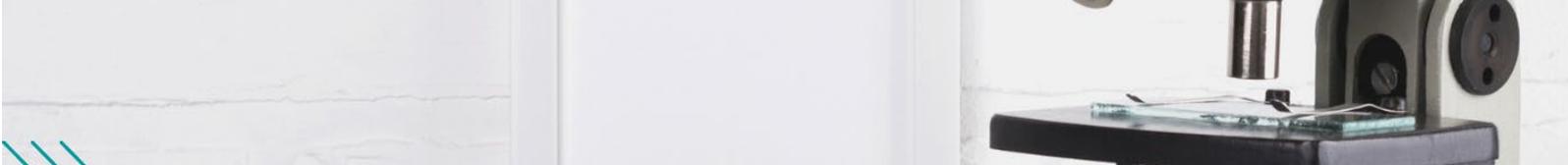
RESUMO

As interações planta-formigas são possíveis devido a estruturas presentes na planta hospedeira, as quais fornecem alimento e/ou abrigo às formigas, propiciando a permanência na planta e dessa maneira realizando sua defesa. *Turnera subulata* Sm. possui nectários extraflorais (NEFs), glândulas distribuídas pelo corpo da planta e que produzem uma substância nutritiva, o que possibilita à espécie desenvolver mutualismos com formigas. O presente estudo foi realizado em Cachoeira dos Índios-PB e teve como objetivo analisar os efeitos que essa interação pode ter em relação ao desenvolvimento vegetativo e sucesso reprodutivo de *T. subulata* Sm. O experimento foi realizado com dois tratamentos contendo 25 indivíduos cada: (A) plantas com formigas e (B) plantas sem formigas, contendo uma barreira física composta por plástico, juntamente com exclusão manual. Foram avaliados: i) altura das plantas, ii) número de folhas, iii) tamanho das folhas, iv) número de flores e v) número de frutos, nas plantas dos dois tratamentos. As análises estatísticas foram realizadas a partir da média dos dados coletados. As plantas que apresentaram maior altura média, número de folhas/planta e tamanho médio de folhas/planta foram as do tratamento B. O que pode ter ocorrido devido a atividade mais elevada dos NFEs nas plantas com a presença de formigas, bem como as próprias formigas podem ter atuado como parasitas e danificado as folhas da planta-hospedeira. Em relação à produção de flores e frutos, as plantas sem formigas também apresentaram números maiores que as plantas com formigas. De fato, o néctar produzido pelos NEFs atrai outras espécies e estas poderiam, de maneira ocasional, desempenhar alguma forma de defesa indireta, permitindo que mais energia pudesse ser direcionada para a produção de flores nesse tratamento. Em relação à quantidade de frutos, a presença das formigas na planta pode ter repellido alguns visitantes florais que poderiam desempenhar o papel de polinizadores. Neste sentido, a ausência de formigas pode ter elevado o número de possíveis polinizadores nas plantas do tratamento B, o que contribuiu para o aumento na produção de frutos, resultando em um maior sucesso reprodutivo. Dado o exposto, neste estudo, a interação formigas - *T. subulata* Sm. não apresentou vantagens para o crescimento vegetativo e reprodução das plantas, o que deixa questionamentos para trabalhos futuros direcionados a esse tipo de interação.

PALAVRAS-CHAVE: Herbívoros, nectários extraflorais, visitantes florais.

INTRODUÇÃO

As interações ecológicas são a base para a manutenção dos ecossistemas. Dessa forma, os organismos vivos mantêm relações complexas as quais atuam em prol de fatores como: alimentação, abrigo e reprodução. Os resultados dessas interações podem variar dependendo



das circunstâncias as quais os organismos forem expostos e das espécies que estiverem envolvidas (BRONSTEIN, 1994; PIRES; DEL-CLARO, 2014).

Nas interações planta-formiga, por exemplo, a presença das formigas confere proteção contra ataques de herbívoros e em contra partida, a planta oferece estruturas que servem como abrigo e/ou alimento para os insetos. Dentre essas estruturas podemos destacar os nectários extraflorais (NEFs), que se apresentam como glândulas produtoras de néctar dispostas pelo corpo do vegetal (a localização varia entre os grupos) fornecendo uma fonte de carboidratos que propicia a permanência das formigas na planta (STRAUSS et al., 2002; KORNDÖFER; DEL-CLARO, 2006; ARBO; MAZZA, 2011; PEREIRA; TRIGO, 2013).

O gênero *Turnera* L., com ocorrência nas Américas, pertence à família Passifloraceae e abriga cerca de 140 espécies. São muito disseminadas no nordeste brasileiro, principalmente em áreas antropizadas. Possuem hábitos arbustivos ou herbáceos, folhas simples, inflorescências racemosas ou flores solitárias, frutos capsulares e cobertos por elaiossomo, NEFs e comumente apresentam mutualismo facultativo com formigas (ROCHA et al., 2010; LANGE et al., 2013; VILELA et al., 2014).

A espécie escolhida para este estudo foi *Turnera subulata* Sm., que tem como características: NEFs; fruto verrucoso; ramos, flores e frutos com tricomas simples; flores com pétalas alvas, raramente amareladas, com base interna da corola enegrecida. Suas flores ficam abertas por cerca de 6 horas, durante a manhã, iniciando sua antese às 5:10 horas, apresentam heterostilia, ou seja, diferença no tamanho dos estames, do tipo distilia (PIACENTE et al., 2002; ARBO et al., 2015).

Estudos anteriores conduzidos por Cruz (2016), Cruz et al. (2018) e Cruz et al. (2019), realizados em outros estados do Nordeste brasileiro, apontaram que a interação de *T. subulata* Sm. com formigas tem contribuição positiva para a planta hospedeira, pois inibem ataques de herbívoros e proporcionam um melhor sucesso reprodutivo. Diante disto, o objetivo deste trabalho foi analisar o papel das formigas em relação ao desenvolvimento vegetativo e sucesso reprodutivo de *T. Subulata* Sm. A partir disso, foi testada a hipótese de que esses insetos proporcionariam um melhor crescimento vegetativo para as plantas, atuando na inibição de herbívoros, e conseqüentemente possibilitariam a alocação de energia, que seria gasta com reparos em seu corpo após ataques de herbívoros, para a reprodução das mesmas.



MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

O estudo foi realizado no Município de Cachoeira dos Índios - PB (38°40'26" de longitude oeste e 06°55'37" de latitude sul), pertencente à microrregião do Sertão Paraibano, no Nordeste brasileiro (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [IBGE], 2018). O clima é caracterizado como Semiárido quente e seco, com temperaturas variando de 23 a 30° C e precipitação média de 913,9 mm/ano.

O relevo está incluído na “Planície Sertaneja”, constituindo um extenso pediplano arrasado, onde se destacam elevações alongadas e residuais. O solo é do tipo Argissolo, podendo-se encontrar porções restritas de Latossolos e Neossolo (EMBRAPA SOLOS, 2018). A vegetação é de pequeno porte, típica de Caatinga, onde predominam cactáceas, arbustos e árvores de pequeno a médio porte.

Cultivo da planta hospedeira

Sementes de *Turnera subula* foram semeadas, no mês de maio/2020, em sacos para mudas com dimensões de 11 x 15 cm de altura, contendo uma mistura de húmus de minhoca e areia (1:1), 3 sementes por saco. Após a germinação, as plântulas foram cultivadas em ambiente com luminosidade controlada, através de uma sobreposição de lona plástica na cor preta, a qual era removida no período da manhã, entre 7:00h e 12:00h, e recolocada a partir das 12:00h. A irrigação diária foi de 200 mL por saco durante dois meses.

Em julho/2020, as plântulas mediam entre 7 e 13 cm de altura quando foram transplantadas para uma área de 20 m² previamente preparada, tendo sido removida a vegetação e recebido irrigação antes do transplante das mudas. A disposição se deu em cinco fileiras, cada uma contendo dez plântulas, com espaçamento de 50 cm entre as mesmas. Os dois tratamentos foram definidos como: A (N=25), com acesso livre para as formigas e B (N=25), com uma barreira física composta por plástico, a qual bloqueava parcialmente a passagem destes insetos, os que conseguiam chegar às plantas foram removidos através de exclusão manual, realizada diariamente com o auxílio de uma pinça.

Avaliação dos impactos promovidos pela presença/ausência de formigas nas plantas de *Turnera Subulata* SM.

Para a contagem do número de formigas que visitaram as plantas do tratamento A, foram realizadas observações quatro vezes por semana, no período da manhã, entre 6:00h e 9:00h.



Sendo que estas tiveram início no momento em que as plântulas foram transplantadas e estenderam-se por todo o período fenológico (produção de flores e frutos).

O crescimento vegetativo foi medido ao final do experimento, agosto/2020, através da altura das plantas, número de folhas por planta e comprimento das folhas mais maduras de cada planta. O sucesso reprodutivo foi quantificado, diariamente, a partir do número de flores e frutos produzidos por cada planta dos dois tratamentos.

Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas a partir da média dos dados coletados, utilizando-se teste t ou teste U (Mann Whitney), dependendo da normalidade dos dados, esta foi obtida através do teste Lilliefors (AYRES *et al.*, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram encontradas três espécies de formigas no tratamento A, com acesso livre, e foi verificado que houve predominância de formigas da Sp1, esta foi observada em 19 plantas. Já a Sp2 apareceu de maneira ocasional em 5 indivíduos e em números pequenos variando de 2 a 6 insetos por planta. A Sp3 foi observada em 8 plantas, ocorrendo de 4 a 14 indivíduos/planta. Ressaltamos que estes dados foram obtidos mediante observações no período da manhã e segundo Arbo e Mazza (2011) e Cruz *et al.* (2018), o número e a composição das espécies de formigas associadas às plantas podem variar no decorrer do dia.

Tabela 1: Gêneros de formigas encontradas nas plantas do tratamento B.

| | |
|-----|--------------------------|
| Sp1 | <i>Crematogaster</i> sp. |
| Sp2 | - |
| Sp3 | <i>Solenopsis</i> sp. |

Fonte: do autor.

Ao final do experimento foi observada uma diferença significativa em relação à altura das plantas dos dois tratamentos, onde as plantas do tratamento A apresentaram altura média de 13,28 cm, enquanto que a altura média das plantas do tratamento B foi de 19,6 cm ($t = -5.8636$; $p < 0.0001$). Nessa perspectiva, estudos apontaram que, quando há a presença de formigas no corpo da planta, a produção dos NEFs pode aumentar, para dessa forma garantir a efetividade da defesa (AGRAWAL; RASTOGI, 2009; AGUIRRE *et al.*, 2013; DÁTTILO *et al.*, 2015), o que pode ocasionar o gasto de recursos que seriam utilizados no desenvolvimento vegetativo, comprometendo assim a altura, número de folhas e inclusive diminuindo o tamanho da área foliar. De fato, os demais aspectos vegetativos que foram avaliados também



apresentaram números maiores nas plantas do tratamento sem a presença de formigas: as plantas do tratamento A apresentaram média de 15,04 folhas por indivíduo, enquanto que a média de folhas nas plantas do tratamento B foi duas vezes maior, 31,52 por indivíduo ($t = -8.5004$; $p < 0.0001$); o comprimento das folhas das plantas sem formigas foi maior, apresentando tamanho médio de 4,7 cm, do que o comprimento médio das folhas das plantas com formigas, 3,58 cm ($U = 135.00$; $p = 0.0006$).

Estudos realizados anteriormente (NASCIMENTO; DEL-CLARO, 2010, CRUZ, 2016; CRUZ et al., 2019) concluíram que as plantas em associação com formigas alcançaram um melhor sucesso reprodutivo, em parte, devido à defesa realizada pelas formigas no que diz respeito aos ataques contra herbívoros, favorecendo de maneira indireta o investimento em reprodução. Contudo, neste estudo, a presença de formigas não contribuiu para o sucesso vegetativo das plantas e conseqüentemente não aumentou a alocação de recursos para a reprodução. O aumento na produção de flores nas plantas sem a presença de formigas pode ocorrer devido a interações com outros organismos, visto que, o néctar produzido pelos NEFs atrai outras espécies e que estas podem, de maneira ocasional, desempenhar alguma forma de defesa indireta (CRUZ, 2016), permitindo que mais energia seja direcionada para a reprodução nessas plantas. Como é o caso do presente estudo, no qual a ausência de formigas proporcionou aumento no sucesso reprodutivo da planta-hospedeira, com plantas sem formigas, tratamento (B), produzindo em média 5,04 flores por indivíduo, enquanto que as plantas do tratamento (A), com formigas, produziram uma média de 0,96 flores por indivíduo ($U = 115.5$; $p < 0.0001$).

O número de frutos produzidos foi diferente entre os tratamentos ($U = 167.50$; $p = 0.0049$): variou de 0 a 5, com média de 0,52 frutos por planta, no tratamento A, no tratamento B a produção média de frutos por planta foi de 2,92, sendo que uma delas conseguiu produzir 10 frutos. De fato, trabalhos como os de Koptur et al. (2015), realizado com uma espécie da família Fabaceae, e Cuautle e Rico-Gray (2003), que estudaram a relação entre formigas e uma espécie também do gênero *Turnera*, verificaram uma relação negativa entre as formigas presentes no corpo da planta e visitantes florais que poderiam desempenhar o papel de polinizadores. Neste sentido, a ausência de formigas pode ter elevado o número de possíveis polinizadores nas plantas do tratamento B, o que contribuiu para o aumento na produção de frutos, resultando em um maior sucesso reprodutivo.



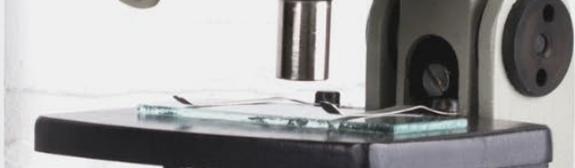
CONSIDERAÇÕES FINAIS

De forma geral, nossos resultados mostraram que as plantas sem a presença de formigas atingiram números maiores em todas as variáveis estudadas, provando que, neste estudo, a presença de formigas não só não contribuiu para o sucesso reprodutivo de *Turnera subulata*, como provocou prejuízos ao seu desenvolvimento vegetativo, diminuindo a altura, a capacidade de produção das folhas e investimento em tamanho da área foliar. Além de diminuir as quantidades de flores e frutos, comprometendo a reprodução.

Dado o exposto, o presente estudo contribui com o conhecimento até hoje construído acerca de interações formiga-planta. Reafirmando que essas relações são complexas e podem ter seus resultados alterados por fatores externos. Ressaltamos ainda a importância de estudos voltados para a associação entre *Turnera subulata* e formigas, tendo em vista que se trata de uma espécie com grande distribuição em áreas antropizadas, pode contribuir para uma maior compreensão das estratégias desenvolvidas nas interações planta-formigas.

REFERÊNCIAS

- AGARWAL, V. M., RASTOGI, N.. Spatiotemporal dynamics and plant-part preference patterns of the plant-visiting ants and the insect herbivores of sponge gourd plants. **J. Asia. Pac. Entomol**, Amsterdã, v. 12, n. 2, p. 57-66, jun. 2009.
- AGUIRRE, A. et al. Morphological characterization of extrafloral nectaries and associated ants in tropical vegetation of Los Tuxtlas, Mexico. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, [S. I.], v. 208, n. 2, p. 147-156, feb. 2013.
- ARBO, M. M.; MAZZA, S. M. The major diversity centre for Neotropical Turneraceae. **Systematics and Biodiversity**, [London], v. 9, n. 3, p. 203-210, aug. 2011.
- ARBO M. M.; GONZALEZ, A. M., SEDE, S. M. Phylogenetic relationships within Turneraceae based on morphological characters with emphasis on seed micromorphology. **Plant Systematics and Evolution**, [S. I.] v. 301, p. 1907-1926, mar. 2015.
- AYRES, M., M. et al. **BioEstat. Versão 5.0**, Sociedade Civil Mamirauá, MCT-CNPq, Belém, Pará, Brasil, 2007.
- BRONSTEIN, J. L. Conditional outcomes in mutualistic interactions. **Trends in ecology & Evolution**, [S. I.], v. 9, n. 6, p. 214-217, june. 1994.
- CUAUTLE, M., RICO-GRAY, V. The effect of wasps and ants on the reproductive success of the extrafloral nectaried plant *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). **Functional Ecology**, London, v. 17, p. 417-423. june. 2013.



CRUZ, N. G. et al. Ant associations in the Neotropical shrub *Turnera subulata* (Turneraceae): Costs or benefits to the host plant?. **Austral Ecology**, [S. I.], v. 44, n. 1, p. 60-69, agu. 2019.

CRUZ, N. G. et al. Variation in the composition and activity of ants on defense of host plant *Turnera subulata* (Turneraceae): strong response to simulated herbivore attacks and to herbivore's baits. **Arthropod-Plant Interactions**, [S. I.], v.12, n. 1, p. 113-121, 2018.

CRUZ, N. G. D. **Formigas associadas a *Turnera subulata* (Turneraceae): custos e/ou benefícios para planta hospedeira?**. 2016. 73 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, 2016.

DÁTTILO, W. et al. Secretory activity of extrafloral nectaries shaping multitrophic ant-plant-herbivore interactions in an arid environment. **J. Arid Environ**, Amsterdã, v. 114, p. 104-109, mar. 2015.

EMBRAPA SOLOS. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5ª ed.. Brasília, DF: Embrapa. 2018. 355 p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/solos/sibcs>

KOPTUR, S. et al. The influence of host plant extrafloral nectaries on multitrophic interactions: An experimental investigation. **PLoS One**, San Francisco, v. 10, n. 9, p. 1-18. sept. 2015.

KORNDÖRFER, A. P.; DEL-CLARO, K. Ant defense versus induced defense in *Lafoensia pacari* (Lythraceae), a myrmecophilous tree of the Brazilian Cerrado. **Biotropica**, [S. I.], v. 38, n. 6, p. 786-788. july. 2006.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Área territorial brasileira. Rio de Janeiro: IBGE. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pb/cachoeira-dos-indios/panorama>. Acesso em: 02 set. 2021.

LANGE, D. et al. Influence of extrafloral nectary phenology on ant-plant mutualistic networks in a neotropical savanna. **Ecological Entomology**, [S. I.], v. 38, n. 5, p. 463-469. June. 2013.

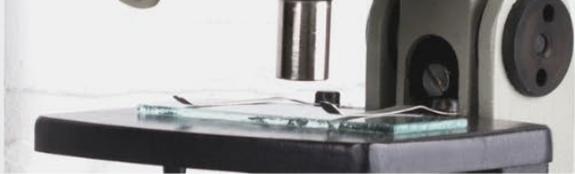
NASCIMENTO, E.A.; DEL-CLARO, K. Ant visitation to extrafloral nectaries decreases herbivory and increases fruit set in *Chamaecrista debilis* (Fabaceae) in a Neotropical savanna. **Flora Morphol. Distrib. Funct. Ecol. Plants**, Amsterdã, v. 205, n. 11, p. 754-756. nov. 2010.

PEREIRA, M. F.; TRIGO, J. R. Ants have a negative rather than a positive effect on extrafloral nectaried *Crotalaria pallida* performance. **Acta Oecologica**, Amsterdã, v. 51, p. 49-53. aug. 2013.

PIACENTE, S. et al. Flavonoids and arbutin from *Turnera diffusa*. **Zeitschrift fur Naturforschung-Section C**, [S. I.], v. 57 n. 11-12, p. 983-985. 2002.

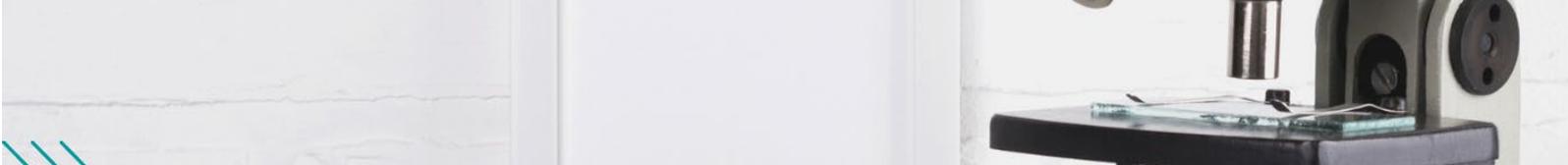
PIRES, L. P.; DEL-CLARO, K. Variation in the outcomes of an ant-plant system: fire and leaf fungus infection reduce benefits to plants with extrafloral nectaries. **Journal of Insect Science**, [S. I.], v. 14, n. 84. july. 2014.

ROCHA, D. I. et al. Morphoanatomy and development of leaf secretory structures in *Passiflora amethystina* Mikan (Passifloraceae). **Australian Journal of Botany**, [S. I.], v. 57, n. 7, p. 619-626. dec. 2009.



STRAUSS, S. Y. et al. Direct and ecological costs of resistance to herbivory. **Trends in ecology & evolution**, Amsterdã, v. 17, n. 6, p. 278-285. june. 2002.

VILELA, A. A. Conditional outcomes in ant–plant–herbivore interactions influenced by sequential flowering. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, Amsterdã, v. 209, n. 7, p. 359-366. july. 2014.



CAPÍTULO 11

ANTIBIÓTICOS X RESISTÊNCIA BACTERIANA: UMA ANTIGA GUERRA E NOVOS DESAFIOS

Carlos Wilson Silvestre
Georgea Isabelly de França
Heloísa Francelino da Silva
Giani Maria Cavalcante

RESUMO

Nesta revisão de literatura, elaborada a partir da análise de 10 trabalhos científicos, será apresentado aspectos farmacodinâmicos dos antibióticos, seus usos terapêuticos, e as limitações que a resistência bacteriana impõe à utilização destes fármacos em diferentes âmbitos. Considerando que ao longo das últimas décadas, a utilização maciça dos antibióticos e outros antimicrobianos ressignificou o tratamento de doenças infecciosas, permitindo a melhoria geral da saúde das populações, com uma redução dramática da morbidade e mortalidade. Contudo, na atualidade, assiste-se a um decréscimo da eficácia de drogas outrora muito potentes, com reaparecimento de microrganismos resistentes a todos os fármacos disponíveis, aumentando o risco de regressão à era pré-antibiótica, em que muitas pessoas morriam por infecções não tratáveis. As estratégias de combate à evolução da resistência bacteriana devem ser centradas nas pessoas, começando ao nível local, por caracterização da utilização dos antibióticos, vigilância epidemiológica da susceptibilidade bacteriana, elaboração de recomendações para boa prática clínica, além da sensibilização da população que utiliza os antibióticos. Sendo os mecanismos bioquímicos e genéticos da resistência bacteriana, assim como os fatores econômicos, sociais, propedêuticos, terapêuticos e epidemiológicos associados ao aparecimento de patógenos resistentes e o ônus que tais organismos geram sobre a saúde pública.

PALAVRAS-CHAVES: Resistência bacteriana. Antibióticos. Prescrição. Consumo.

INTRODUÇÃO

Estudos apontam que a resistência bacteriana aos antibióticos é atualmente um dos problemas de saúde pública mais relevante, considerando que muitas bactérias deixaram de responder aos antibióticos usualmente utilizados. Nesse sentido, percebe-se o desenvolvimento de resistência bacteriana aos antibióticos como um fenômeno natural resultante da pressão seletiva exercida pelo uso de antibióticos, mas que tem apresentado uma acelerada expansão resultante de uma utilização inadequada destes fármacos, expressando a existência de uma evidente correlação entre um maior consumo de antibióticos e níveis mais elevados de resistência microbiana (SANTOS, 2014).

Observando tal cenário, segundo Nascimento (2016) é possível afirmar que a resistência aos antibióticos é responsável por consequências de caráter clínico e econômico graves,



mantendo relações intrínsecas com o aumento da morbidade e mortalidade como consequência de atrasos na administração de tratamentos eficazes contra as infecções causadas por bactérias resistentes. Por sua vez, o prolongamento do período de hospitalização com uso de antibióticos diferentes dos de primeira linha aumentam também, acentuadamente, os custos dos cuidados de saúde, o que configura um problema particularmente relevante, observando os recursos finitos que sustentam os sistemas de saúde e tendo em conta a atual conjuntura de crise econômica e financeira.

É importante destacar o uso indevido de antibióticos, ou seja, o uso sem orientação profissional ou a incompletude do tratamento, situações que podem favorecer o desenvolvimento de mecanismos de adaptação e de resistência da bactéria contra o antibiótico que foi utilizado, de forma que pode permanecer por mais tempo no organismo, proliferar-se e chegar à corrente sanguínea, caracterizando a sepse, (ARAÚJO et al., 2021).

Nesse cenário, a bactéria resistente é capaz de multiplicar-se mais facilmente e, assim, transmitir os seus genes de resistência para outras gerações. Além disso, existe a possibilidade de novas mutações no material genético dessas bactérias, dando origem a superbactérias, que são aquelas que possuem resistência a mais de um tipo de antibiótico. Quanto mais resistente é a bactéria, mais difícil é o seu tratamento, uma vez que há menos antibióticos disponíveis capazes de tratar aquela infecção (MENDONÇA et al., 2020).

Nessa perspectiva, tendo em conta a importância do problema da resistência microbiana e a sua crescente ameaça para a saúde pública a nível mundial, este trabalho pretende, assim, discutir a resistência bacteriana a antibióticos, conceituando as categorias analisadas e refletindo sobre esse problema da resistência microbiana na saúde pública, analisando fatores que podem influenciar o consumo de antibióticos e, conseqüentemente, o nível de resistência aos mesmos. Apresenta-se uma revisão de literatura da evolução da resistência microbiana e possíveis estratégias em uso.

METODOLOGIA

O trabalho desenvolvido segue os preceitos do estudo exploratório, por meio de uma revisão de literatura, como metodologia de investigação. Nessa perspectiva, a revisão é um procedimento metodológico que se oferece como possibilidade na busca de soluções para o problema de pesquisa (LIMA; MIOTO, 2017).

Para Boccato (2016), pesquisa bibliográfica é o processo pertinaz de buscar soluções para “um problema (hipótese) por meio de referenciais teóricos publicados, analisando e

discutindo as várias contribuições científicas”.

Redigida por meio da síntese de resultados de estudos originais, quantitativos, que abordam o tema sobre a resistência bacteriana a antibióticos. A busca de dados ocorreu nas seguintes bases eletrônicas: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Pubmed, Medline, Scielo. Os descritores utilizados serão: Resistência bacteriana; Antibióticos; Bactérias resistentes; Antibióticos e Resistência.

O processo de seleção dos artigos considerou, como critérios de inclusão publicações e artigos que apresentem investigações e reflexões sobre o uso de antibióticos e a resistência bacteriana, no ano de 2011 a 2021, possibilitando reunião e comparação entre os diferentes dados encontrados nas fontes de consulta e listando as principais estratégias e informações que caracterizam o processo de resistência bacteriana aos antibióticos e suas possíveis consequências.

Foram excluídos os artigos que não abordaram a temática em análise ou apresentaram discussões que fugiram do tema principal, ou ainda estavam fora do período cronológico das produções em análise.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na busca eletrônica, foram coletados 10 trabalhos conforme critérios definidos na sessão de matérias e métodos, apresentando aspectos exclusivos previstos na metodologia. Sendo assim estes artigos estão listados na Tabela 1.

Tabela 1- Compilação de artigos sobre o desenvolvimento de resistência bacteriana.

| Autor/ ano | Contexto apresentado | Estratégias adotadas |
|--|--|--|
| COSTA, A. L. p.; SILVA-JUNIOR, A. C. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. Estação Científica (UNIFAP) , v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017. | Nesta revisão de literatura, elaborada a partir da análise de 73 trabalhos científicos, é introduzido ao leitor aspectos farmacodinâmicos dos antibióticos, seus usos terapêuticos (humano e veterinário), nas produções animal e industrial, e as limitações que a resistência bacteriana impõe à utilização destes fármacos em diferentes âmbitos. | Sendo os mecanismos bioquímicos e genéticos da resistência bacteriana, assim como os fatores econômicos, sociais, propedêuticos, terapêuticos e epidemiológicos associados ao aparecimento de patógenos resistentes e o ônus que tais organismos geram sobre a saúde |



| | | |
|---|--|---|
| | | pública, o foco deste trabalho. |
| <p>OLIVEIRA, A. L. D. et al. Mecanismos de resistência bacteriana a antibióticos na infecção urinária. Revista Uningá Reviews, v.20, n.3, p.17-24, 2014.</p> | <p>Nos últimos anos, observam-se cada vez mais casos de resistência aos antibióticos nesse tipo de infecção. Este trabalho tem como objetivo realizar uma revisão da literatura, a respeito dos mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos na infecção urinária. Para o desenvolvimento desse trabalho foi realizada uma revisão bibliográfica nas bases de dados Scielo e BVS.</p> | <p>Para combater as ITU's os antibióticos foram de fundamental importância, mas seu mau uso fez com que as bactérias desenvolvessem mecanismos de resistência. As bactérias tornam-se resistentes aos fármacos por alguns mecanismos, como as mutações cromossômicas e genéticas, desenvolvimento da capacidade de produzir bombas de resistências a múltiplos fármacos (MDR) e destruição do antibiótico através de enzimas.</p> |
| <p>LOUREIRO, R. J. et al. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. Revista Portuguesa de Saúde Pública, v.34, n.1, p.77-84, 2016.</p> | <p>A resistência bacteriana aos antibióticos é atualmente um dos problemas de saúde pública mais relevantes a nível global, dado que apresenta consequências clínicas e económicas preocupantes, estando associada ao uso inadequado de antibióticos. Portugal é, no contexto europeu, um país com um elevado consumo de antibióticos, apesar de uma diminuição no consumo destes fármacos nos últimos anos.</p> | <p>A resistência bacteriana tem crescido acentuadamente, sendo que as bactérias Gram-positivas mais resistentes aos antibióticos são da espécie <i>Staphylococcus aureus</i> e do género <i>Enterococcus</i>, ao passo que as bactérias Gram-negativas mais resistentes aos antibióticos são das espécies <i>Acinetobacter</i></p> |



| | | |
|---|---|--|
| | | <i>baumannii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e da família <i>Enterobacteriaceae</i> . |
| SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. Texto Contexto Enfermagem , v.13, n.1, p. 64-70, 2014. | Este artigo aborda alguns aspectos do impacto da resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. Alerta sobre o importante papel dos profissionais de saúde no controle da infecção hospitalar e do grave problema do uso indiscriminado de antibióticos que tem provocado uma pressão seletiva sobre as bactérias do ambiente hospitalar tornando-as multiresistentes | A resistência antimicrobiana tornou-se o principal problema de saúde pública no mundo, sendo uma inevitável consequência do uso indiscriminado de antibióticos. Micro-organismos como: <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina (MRSA), <i>Streptococcus pneumoniae</i> não susceptível à penicilina (PNSSP), enterococos resistente à vancomicina (VRE) e <i>Enterobacteriaceae</i> produtoras de beta-lactamase de espectro ampliado (ESBL) têm emergido e se espalhado. |
| RODRIGUES, T. S. et al. Resistência bacteriana à antibióticos na unidade de terapia intensiva: revisão integrativa. Revista Prevenção de Infecção e Saúde , v.4, n.1, p.7350-7356, 2018. | Revisão integrativa da literatura, com vistas à responder a questão: quais as principais bactérias resistentes a antibióticos na Unidade de terapia Intensiva? Realizada no mês de junho de 2018, nas bases de dados BDENF, LILACS, PUBMED via Medline e Web of Science, utilizando como descritores: Bacteria, Drug Resistance, Microbial, e Intensive Care Units. | Resultados: optou-se por agrupar os resultados em três eixos temáticos: resistência bacteriana nos serviços de saúde: infecções versus resistência; principais bactérias resistentes à antibióticos na Unidade de Terapia Intensiva; e antibióticos de maior resistência bacteriana na Unidade de Terapia Intensiva. Conclusão: Identificou-se diversas espécies de bactérias resistentes à antibióticos, |



| | | |
|--|--|---|
| | | em países desenvolvidos e em desenvolvimento. Diante disso, torna-se indispensável a sensibilização dos profissionais para a necessidade de medidas de controle, redução e prevenção destes. |
| OLIVEIRA, A. C.; SILVA, R. S. Desafios do cuidar em saúde frente à resistência bacteriana: uma revisão. Revista Eletrônica de Enfermagem , v.10, n.1, p.189-197, 2009. | A resistência bacteriana é considerada um problema de saúde pública mundial, realidade para a qual têm sido propostas diversas iniciativas de controle. Assim, a contínua emergência de microrganismos resistentes nas instituições de saúde constitui-se um grande desafio mobilizando órgãos nacionais e internacionais de vigilância e controle epidemiológicos. | A educação dos profissionais, dimensionamento de recursos humanos, cultura microbiológica de vigilância e implementação de medidas de isolamento por contato para pacientes infectados/colonizados por microrganismos resistentes e higienização das mãos. |
| DIAS, M.; MONTEIRO, M. S. Antibióticos e resistência bacteriana: velhas questões, novos desafios. Cadernos de Otorrinolaringologia: Clínica, inovação e investigação , v.1, n.1, p. 1-12, 2010. | Ao longo das últimas décadas, a utilização maciça dos antibióticos e outros antimicrobianos veio revolucionar o tratamento de doenças infecciosas, permitindo a melhoria geral da saúde das populações, com uma redução dramática da morbidade e mortalidade. Na atualidade, contudo, assiste-se a um decréscimo da eficácia de drogas outrora muito potentes, com reaparecimento de microrganismos resistentes a todos os fármacos disponíveis, aumentando o risco de regressão à era pré-antibiótica, em que | As estratégias de combate à evolução da resistência bacteriana devem ser centradas nas pessoas, começando ao nível local, por caracterização da utilização dos antibióticos, vigilância epidemiológica da susceptibilidade bacteriana, elaboração de recomendações para boa prática clínica, além da sensibilização da população que utiliza os antibióticos. |



| | | |
|--|--|---|
| | <p>muitas pessoas morriam por infecções não tratáveis.</p> | |
| <p>PAZIAN, G.; MANTOVANI, S. A. S. S.; ZAIARA, F. S. Resistência bacteriana a antibióticos. Revista Cesumar - Ciências Humanas e Sociais Aplicadas, v.11, n.1, p. 1-15, 2016.</p> | <p>A resistência a antibióticos é evidente, o que torna necessário repensar, analisar e pesquisar os antibióticos, tendo-se em vista que seu uso indiscriminado está levando a não surtirem os efeitos desejados. O objetivo deste trabalho é indicar a necessidade de programas de intervenção e promoção do uso adequado das drogas às quais os agentes patológicos estão se tornando resistentes.</p> | <p>Para a análise e observação de diferentes tipos de drogas e suas alternativas, estão sendo estudados vacinas, fitoterápicos, raças resistentes e uso de bactérias e fungos para controle de epidemias. Uma monitorização rigorosa é imprescindível para todo tipo de uso de drogas, para que não ocorram avanços de imunidades ou outros efeitos indesejáveis.</p> |
| <p>OLIVEIRA, A. L. D. Resistência bacteriana a antibióticos: uma análise da conduta hospitalar. Revista Cesumar – Ciências Humanas e Sociais Aplicadas, v. 11, n.1, p. 28-35, 2016.</p> | <p>O objetivo deste trabalho é identificar as principais práticas médico-hospitalares agravantes da resistência bacteriana que refletem o uso indiscriminado de antibióticos e causam infecções hospitalares. Para tanto, apresenta conceitos gerais acerca da antibioticoterapia. Analisa o desenvolvimento de resistência bacteriana induzida pelo uso indiscriminado de antibióticos, descrevendo os mecanismos genéticos e bioquímicos da resistência. Focaliza a incidência de resistência bacteriana</p> | <p>Examina as condutas hospitalares quanto ao emprego inadequado de antibióticos em pacientes. Finaliza concluindo sobre a importância da consciência do perigo representado pelo uso indevido de antibióticos e mostrando como o uso irracional desses medicamentos realmente proporciona um aumento das infecções hospitalares.</p> |



| | | |
|---|--|---|
| | em hospitais como principal agente etiológico das infecções hospitalares. | |
| HOEFEL, H. H. K.; LAUTERT, L. Administração endovenosa de antibióticos e resistência bacteriana: responsabilidade da enfermagem. Revista Eletrônica de Enfermagem, v. 8, n. 3, p.441-449, 2016. | Revisão bibliográfica sistematizada com pesquisa de artigos de 1994 a 2005 na Internet usando-se os seguintes descritores juntamente com enfermagem: resistência bacteriana, controle de antibióticos, infecções hospitalares, administração de medicamentos, erros de medicações e eventos adversos. Foram selecionados 58 artigos que apresentaram correlação com a enfermagem e/ou eram básicos na fundamentação brasileira ou internacional. | Foram descritos aspectos gerais sobre a resistência bacteriana, antibióticos e custos incluindo estratégias para prevenção da resistência e classificações de erros utilizadas internacionalmente. Baseado nesse conhecimento são recomendadas intervenções para implementação do cuidado de enfermagem prático e seguro. |

Fonte: Dados da pesquisa.

Diante das pesquisas e análises feitas foi possível identificar que no decorrer das últimas décadas, o desenvolvimento de fármacos eficientes no combate a infecções bacterianas revolucionou o tratamento médico, ocasionando a redução drástica da mortalidade causada por doenças microbianas.

De acordo Costa; Silva-Junior (2017) a disseminação do uso de antibióticos lamentavelmente fez com que as bactérias também desenvolvessem defesas relativas aos agentes antibacterianos, com o conseqüente aparecimento de resistência. Nesta perspectiva, Oliveira et al. (2014) aponta uma expressiva ameaça para a saúde pública no fenômeno da resistência bacteriana a diversos antibióticos e agentes quimioterápicos impondo sérias limitações às opções para o tratamento de infecções bacterianas. Logo, esta resistência prolifera-se rapidamente através de transferência genética, atingindo algumas das principais bactérias Gram-positivas, como enterococos, estafilococos e estreptococos.

Para Loureiro et al. (2016), um exemplo identificado encontra-se no período após a Segunda Guerra Mundial quando o uso extensivo de penicilina desencadeou o surgimento das primeiras cepas de bactérias Gram-positivas não susceptíveis a antibióticos penicilínicos, conhecidos como PRSP ("penicillin-resistant" *Streptococcus pneumoniae*).



A literatura em Costa; Silva-Junior (2017) demonstra que os antibióticos lançados no mercado nos anos seguintes foram se tornando limitados, devido ao desenvolvimento de resistência múltipla em cepas de enterococos e estafilococos infecciosos, como por exemplo os análogos penicilínicos meticilina e cefalosporina, além de tetraciclina e eritromicina. O mesmo autor aponta que a partir da descoberta do antibiótico glicopeptídico vancomicina, isolado do fungo *Amycolatopsis orientalis* pelo grupo Eli Lilly tem-se a última linha de defesa contra a ameaça do *Staphylococcus aureus*.

Loureiro et al. (2016) descreve que a nomenclatura é originária de uma expressão inglesa "to vanquish" (aniquilar, destruir), vancomicina tornou-se quase uma lenda devido a sua excelente performance frente a cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina, conhecidos por MRSA ("methicillin-resistant" *S. aureus*). Vancomicina é ativa primariamente contra cocos Gram-positivos, sendo também eficaz contra *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Clostridium difficile* e *Corynebacterium* sp., mas não possui atividade contra bactérias Gram-negativas e micobactérias.

Santos (2014) descreve em sua revisão de literatura que sua disponibilidade para uso clínico ocorreu em 1958, após aprovação pela agência norte-americana reguladora de fármacos e alimentos. Este mesmo período histórico aponta que outros agentes antiestafilococos como cefalosporinas, meticilina, tetraciclina e eritromicina também passaram a ser utilizados, recebendo uma aceitação clínica muito maior que a vancomicina sobretudo devido aos aparentes efeitos de toxicidade desta última.

Loureiro et al. (2016), diz que a permissão da produção de vancomicina com alta pureza se deu devido aos avanços em processos de fermentação microbiológica e técnicas de separação, resultando na eliminação de muitos dos seus efeitos colaterais. Logo, o emprego clínico da vancomicina foi difundido e sua obtenção tornou-se objeto de grande interesse acadêmico e industrial devido a crescente incidência de resistência bacteriana frente aos outros agentes quimioterápicos.

Dias; Monteiro (2010) mostra a existência de um período de certa tranquilidade na incessante guerra contra microrganismos patógenos, causando inclusive uma desaceleração nos investimentos de empresas farmacêuticas em programas de descobrimento e desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos a consolidação da vancomicina como um antibiótico poderoso frente a bactérias Gram-positivas multirresistentes.



Todavia, o estabelecimento desta supremacia passa a sofrer abalos e desestabilidades com o surgimento das cepas pioneiras de enterococos resistentes à vancomicina, conhecidos por VRE ("vancomycin-resistant" *enterococci*). Muito embora possua uma natureza não patogênica dos enterococos com relação a pessoas saudias, o surgimento em 1988 dos primeiros casos de resistência destas bactérias causou enorme alarme, pois os enterococos são capazes de infectar pacientes imunodeficientes, tais como transplantados e vítimas de AIDS (HOEFEL; LAUTERT, 2016).

Na análise e reflexão de um vasto cenário permeado por muitas indagações, fármacos que hoje lideram as listas dos mais vendidos correm o risco de se tornarem obsoletos, devido ao aumento da resistência bacteriana. Nesse sentido, a busca pela compreensão dos fenômenos responsáveis pelos mecanismos adaptados de resistência, de forma a criar alternativas e novas estratégias para o combate a bactérias resistentes é o grande desafio da comunidade médica e científica.

Sendo assim, Oliveira (2016) aponta para um contexto em que a demanda crescente por novas substâncias capazes de inibir, em concentrações baixas, processos vitais de uma ou mais espécies de microrganismos resistentes são capazes de provocar uma verdadeira corrida em busca de agentes antibacterianos de origem natural, semissintética ou sintética cada vez mais eficientes. Apesar de uma perspectiva utópica do encontro de uma substância antibacteriana invencível frente a patógenos multirresistentes, com amplo espectro de ação e sem efeitos colaterais, o descobrimento de novos antibióticos potentes e mais seguros representa não apenas o avanço para uma melhor qualidade de vida, mas também a participação em um mercado em crescimento que movimenta cerca de 25 bilhões de dólares.

Loureiro et al. (2016), enreda esse cenário da utilização médica dos antibióticos como um antigo e complexo problema alvo de inúmeras estratégias, em busca de um emprego adequado e controle da evolução de estirpes resistentes. A otimização dos padrões de prescrição e a redução da má utilização dos antibióticos são incontornáveis, mas a diversidade dos fatores implicados dificulta o sucesso das medidas teóricas. Sendo assim, o autor indica que são necessários estudos de base populacional para avaliação dos fatores determinantes e facilitadores da utilização e não utilização dos antibióticos.

Oliveira (2016,) reforça esse raciocínio explicitando que um dos elementos fundamentais para o desenvolvimento de uma estratégia é a vigilância dos perfis de resistência bacteriana e a coleta de informações de forma sistemática. A relevância das informações



encontra-se não só na determinação da magnitude do problema, identificando os principais microrganismos responsáveis pelas infecções hospitalares, encontrando a real utilidade dos vários antibióticos mais utilizados na segurança social, e por fim, possibilitando o atendimento das linhas de ação e estratégias no uso de antibióticos no futuro imediato.

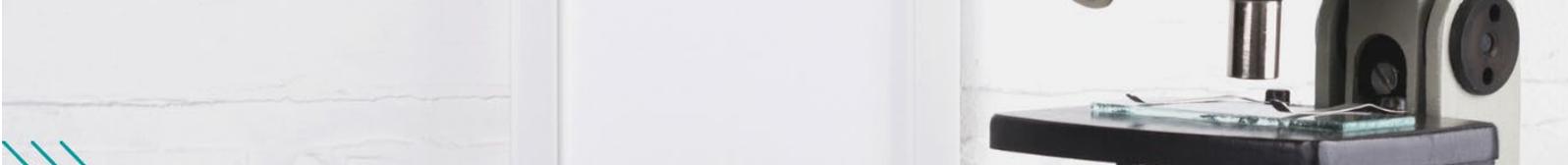
Observando tais perspectivas, é importante salientar que os estudos analisados mostram que a crença de que o problema da resistência bacteriana seja ultrapassado com a descoberta de novas drogas é para muitos, mais prática do que a concepção de intervenções para conter a sua evolução. A utilização adequada dos antibióticos tem importância crucial para a manutenção da saúde da população e para um uso eficiente dos recursos dos sistemas de prestadores de cuidados de saúde. A utilização racional dos antibióticos é relevante para os doentes, profissionais de saúde, decisores políticos, bem como para a indústria farmacêutica. A qualidade dos cuidados de saúde prestados à população pressupõe um trabalho estruturado de análise e identificação de indicadores de processo e resultado. Para já, os dados resultantes das iniciativas descritas e analisadas foram o ponto inicial de uma ampla discussão, que todos os dias se amplifica e aperfeiçoa, contendo linhas orientadoras para uma melhor utilização dos antibióticos no contexto da prática clínica, visando uma gestão mais criteriosa desse recurso e o controlo da evolução da resistência bacteriana.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Considerando que o desenvolvimento da resistência aos antibióticos é um fenómeno ecológico natural, produto de bilhões de anos de evolução que ocorre na ausência de atividade humana, devido à exposição de micro-organismos às substâncias antimicrobianas produzidas por outros micro-organismos, favorecendo a seleção de genes de resistência em espécies ambientais de forma natural, mas que podem ser transferidos para patógenos humanos.

Por conseguinte, a busca por novos metabólitos ativos contra diferentes micro-organismos patogênicos deve ser ativa, como também as medidas para evitar a resistência bacteriana, como o uso racional dos antibióticos, prevenção de infecções bacterianas, controle e prevenção da disseminação de micro-organismos resistentes são essenciais, assim como.

Os estudos na área apontam a essencialidade de pesquisas para o desenvolvimento de novos antimicrobianos que nas ciências direcionadas ao reconhecimento da biodiversidade e bioprospecção de novos produtos naturais com atividade antimicrobiana, a especialização de recursos humanos nas áreas da biologia molecular e das engenharias biológicas, assim como as nanociências e a nanotecnologia para o melhoramento dos medicamentos existentes e



desenvolvimento de novas formas farmacêuticas como nanoemulsões, nanopartículas, lipossomas e dendrímeros para combater o problema da resistência microbiana.

De modo conclusivo, a prevenção das doenças infecto parasitárias para ser efetiva requer a realização de boas práticas de higiene por parte da população e medidas profiláticas que considerem a natureza do estímulo doença, fatores ambientais e a interação do hospedeiro humano e o estímulo-doença que deve ser eliminado ou ser reduzido a um nível insignificante antes que a interação com o hospedeiro humano ocorra, a identificação do horizonte clínico (sinais e sintomas) das doenças infecciosas quando a interação estímulo-doença e hospedeiro já tenha ocorrido para que a cura seja alcançada e os diferentes graus de incapacitação como morte, cura com defeito e estados crônicos sejam evitados, assim como as causas sociais e as condições socioambientais que promovem as doenças devem ser tópicos abordados pelos profissionais de saúde de forma holística, multidisciplinar e transdisciplinar, pois o conhecimento e compreensão do fenômeno da resistência bacteriana por parte dos profissionais de saúde os tornam conscientes da importância de suas práticas individuais, coletivas e suas relações com a problemática trabalhada, possibilitando por meio de análise crítica do ambiente em que trabalham e suas práticas profissionais contribuir de forma pragmática e eficaz para a reformulação das políticas públicas de saúde .

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, D. D. et al. A resistência bacteriana frente a antibióticos utilizados no tratamento da gonorreia: uma revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, e16710313127, 2021

BOCCATO, V. R. C. Metodologia da pesquisa bibliográfica na área odontológica e o artigo científico como forma de comunicação. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade São Paulo**, v. 18, n. 3, p. 265-274, 2006.

COSTA, A. L. p.; SILVA-JUNIOR, A. C. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, Macapá, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.

DIAS, M.; MONTEIRO, M. S. Antibióticos e resistência bacteriana: velhas questões, novos desafios. **Cadernos de Otorrinolaringologia: Clínica, inovação e investigação**, v.1, n.1, p. 1-12, 2010.

HOEFEL, H. H. K.; LAUTERT, L. Administração endovenosa de antibióticos e resistência bacteriana: responsabilidade da enfermagem. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 8, n. 3, p.441-449, 2016.



LIMA, T. C. S.; MIOTO, R. C. T. **Procedimentos metodológicos na construção do conhecimento científico: a pesquisa bibliográfica.** Katál, Florianópolis, v.10, spe, 2007.

LOUREIRO, R. J. et al. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v.34, n.1, p.77-84, 2016.

MENDONÇA, F. R. et al. Conhecimento a respeito de resistência bacteriana e hábitos de utilização de antimicrobianos em uma população no sul do Brasil. *Brazilian Journal of development*, v.6, n.2, p.5931-5947, 2020.

NASCIMENTO, E. D. **Resistência bacteriana em reservatório do semiárido brasileiro: caracterização, ação para vigilância ambiental, prevenção e educação em saúde.** 2016. 274f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2016.

PAZIAN, G.; MANTOVANI, S. A. S. S.; ZAIARA, F. S. Resistência bacteriana a antibióticos. **Revista Cesumar - Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**, v.11, n.1, p. 1-15, 2016.

RODRIGUES, T. S. et al. Resistência bacteriana à antibióticos na unidade de terapia intensiva: revisão integrativa. **Revista Prevenção de Infecção e Saúde**, v.4, n.1, p.7350-7356, 2018.

SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto Contexto Enfermagem**, v.13, n.1, p. 64-70, 2014.

OLIVEIRA, A. C.; SILVA, R. S. Desafios do cuidar em saúde frente à resistência bacteriana: uma revisão. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v.10, n.1, p.189-197, 2018.

OLIVEIRA, A. L. D. et al. Mecanismos de resistência bacteriana a antibióticos na infecção urinária. **Revista Uningá Reviews**, v.20, n.3, p.17-24, 2014.

OLIVEIRA, A. L. D. Resistência bacteriana a antibióticos: uma análise da conduta hospitalar. **Revista Cesumar – Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**, v. 11, n.1, p. 28-35, 2016.

www.editorapublicar.com.br
contato@editorapublicar.com.br
@epublicar
facebook.com.br/epublicar

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Pesquisa e inovação em diálogo



**JORDANY GOMES DA SILVA
ROGER GOULART MELLO
PATRÍCIA GONÇALVES DE FREITAS
ORGANIZADORES**



2022



www.editorapublicar.com.br
contato@editorapublicar.com.br
@epublicar
facebook.com.br/epublicar

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Pesquisa e inovação em diálogo



JORDANY GOMES DA SILVA
ROGER GOULART MELLO
PATRÍCIA GONÇALVES DE FREITAS
ORGANIZADORES



2022

