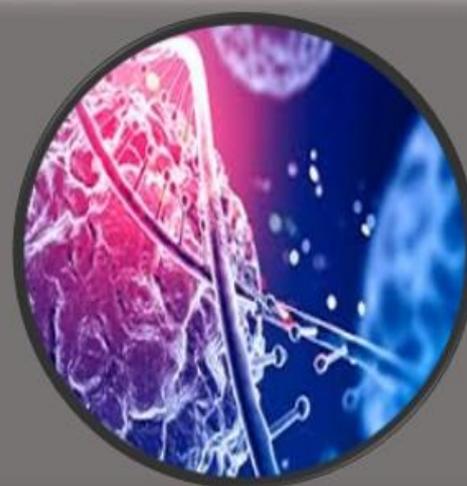
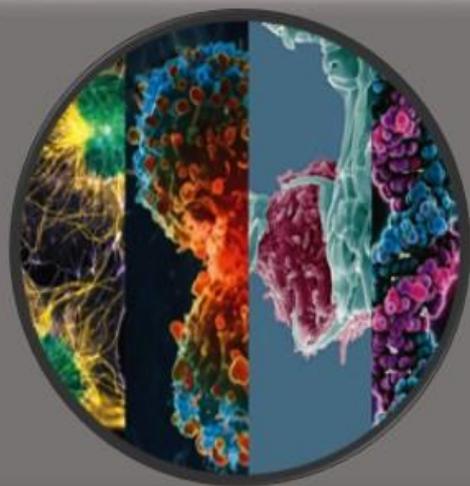


Guilherme B. L. De Freitas
Editor Chefe

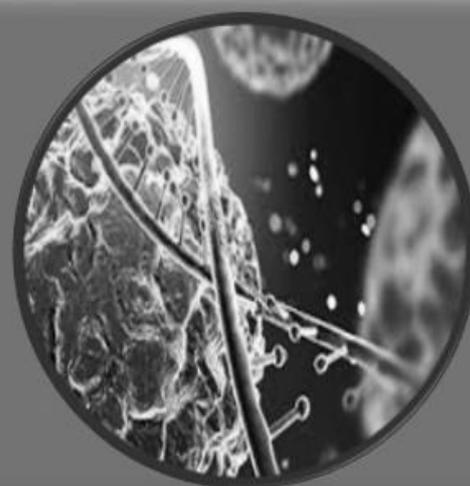
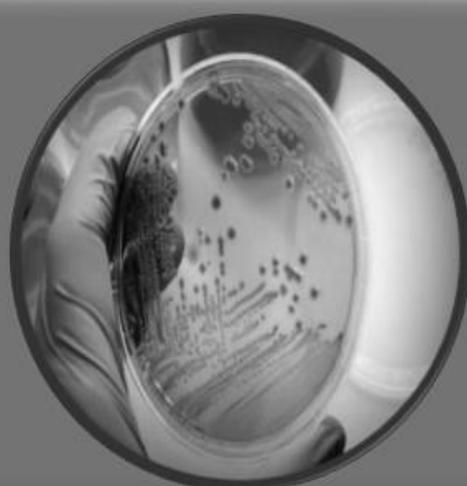
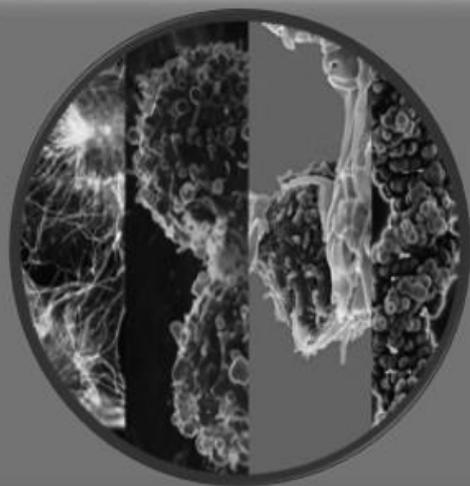


BIOMEDICINA

Curso Destaque



Guilherme B. L. De Freitas
Editor Chefe



BIOMEDICINA

Curso Destaque



1ª Edição

2020 by Editora Pasteur

Copyright © Editora Pasteur

Copyright do Texto © 2020 Os Autores

Copyright da Edição © 2020 Editora Pasteur

Editor Chefe: Prof Dr Guilherme Barroso Langoni de Freitas

Coordenadores de Edição e Revisão: Durinézio J. De Almeida & Guilherme A. G. Martins

Diagramação: Editora Pasteur

Edição de Arte: Editora Pasteur

Revisão: Corpo Editorial da Editora Pasteur e Autores

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

(Editora Pasteur, PR, Brasil)

FR862c FREITAS, Guilherme Barroso Langoni de.
Biomedicina - Curso Destaque / Guilherme Barroso
Langoni de Freitas. 1. ed. - Irati: Pasteur, 2020.

1 livro digital ; 374 p. ; il.

Modo de acesso: Internet

<https://doi.org/10.29327/514920>

ISBN: 978-65-86700-03-9,

1. Biomedicina 2. Interdisciplinar 3. Saúde I. Título.

CDD 610

CDU 601/618

APRESENTAÇÃO

A Biomedicina foi criada em 1966 no Brasil, como resultado de um projeto nacional interministerial de objetivo claro: Formar docentes especializados nas disciplinas básicas das escolas de Medicina e de Odontologia, além de profissionais capacitados para auxiliarem pesquisas nas áreas de ciências aplicadas. Ao longo dos anos a Biomedicina teve a grade curricular modificada por diversas vezes, no entanto, mantendo sempre a característica peculiar de pesquisador nos egressos.

A profissão de biomédico foi regulamentada em 03 de setembro de 1979, através da Lei nº. 6.684. Em 1989, o Conselho Federal de Biomedicina criou 4 Conselhos Regionais de Biomedicina (1ª - 4ª Regional). Eles aumentaram a fiscalização sobre as condições de trabalho, supervisão e interesse dos profissionais. Entretanto, não se esperava à época um crescimento tão grande observado nos últimos anos.

Atualmente a Biomedicina possui 30 habilitações, se encontra entre os 10 cursos mais procurados do país e, em constante expansão política, científica e estrutural, com aumento significativo e fortalecimento dos Conselhos Regionais. Desta forma, a Editora Pasteur lançou este livro, BIOMEDICINA - CURSO DESTAQUE, como forma de reforçar a organização, expansão e potencial dos profissionais e acadêmicos biomédicos dentro dos seus diversos campos de atuação.

Pesquisadores biomédicos e colaboradores, de Norte a Sul desse país, contribuíram grandemente com suas expertises nessa Edição especial. Esse e-book reflete a ampla possibilidade de atuação desse curso que não pára de se expandir. Estudos, *e.g.* nas áreas de toxicologia, farmacologia, estética, saúde pública, gestão e análises clínicas, marcam esse curso fundado para pesquisa e adaptado ao longo dos anos para as mais diversas áreas da saúde.

Parabéns Biomedicina, parabéns biomédicos.

Drª Janaína Naunann
Biomédica
Presidente do CRBM-6

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

TÉCNICAS EXPERIMENTAIS PARA MELHORAR COMPATIBILIDADE DE TRANSPLANTES AUTÓLOGOS E ALOGÊNICOS EM TERAPIA CELULAR 1

ANDRÉ LA REIS
BEATRIZ E BORGES

CAPÍTULO 2

CETOACIDOSE COMO COMPLICAÇÃO DA DIABETES *MELLITUS* EM ADULTOS REVERTIDA POR INSULINOTERAPIA 10

FERREIRA, I. R.
MENDES, L. C.

CAPÍTULO 3

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA FENILCETONÚRIA NAS REGIÕES NORTE E NORDESTE DO BRASIL 29

FERNANDA DA S PLATNER
JULIA PF PEPES
BRUNO DOS S CRESCENCIO
BRUNA MR GALANTE
ROGÉRIO RV BOAS
FERNANDA DE AG DAROS

CAPÍTULO 4

A INFLUÊNCIA GENÉTICA EM USUÁRIOS DEPENDENTES DE CRACK: UMA REVISÃO DA LITERATURA 36

CRISTIANO ST FILHO
LUMA SANTOS
CAMILLA LAZZARETTI

CAPÍTULO 5

ANÁLISE METABOLÔMICA POR RMN DE MACRÓFAGOS MURINOS DA LINHAGEM RAW-BLUE ESTIMULADOS POR LPS 42

GABRIELE LN ALVES
GUILHERME L SASSAKI

CAPÍTULO 6

AÇÕES EDUCATIVAS PARA PREVENÇÃO DO CÂNCER DE COLO UTERINO: UMA INTERVENÇÃO COMUNITÁRIA EM UM MUNÍCIPIO DO LITORAL NORTE DO RIO GRANDE DO SUL 47

JULIANA ANDRADE
ALINE FRANCIELI
DEONILDA FISCHER
GABRIELA KRAEMER
CAMILLA LAZZARETTI
FERNANDA HUFF

CAPÍTULO 7

ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA: UM PROMISSOR FÁRMACO DE PROPRIEDADES ANSIOLÍTICAS 51

MARIA THERESA SP DA SILVA
CAMILLA LAZZARETTI

CAPÍTULO 8

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA AÇÃO CICATRIZANTE DO EXTRATO DE FOLHAS DA ESPÉCIE *Piper amalago* L. 59

MAIARA DE F MACHADO
HUGO CP JUNIOR
VERA LP DOS SANTOS
JANE M BUDEL
JOÃO LC RIBAS

CAPÍTULO 9

UTILIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS NO DESENVOLVIMENTO DE VACINAS 70

RHAYSA AT SANTOS
EVERTON PADILHA

CAPÍTULO 10

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA PASTEURIZAÇÃO E ESTERILIZAÇÃO DE LEITES VENDIDOS EM TRÊS SUPERMERCADOS DA ASA NORTE EM BRASÍLIA-DF 78

BEATRIZ P CARDOSO
MARCUS V DA S COIMBRA

CAPÍTULO 11

MICROBIOTA INTESTINAL E SUA RELAÇÃO COM PATOLOGIAS 89

KELLY CG DE ALMEIDA

CAPÍTULO 12

EDUCAÇÃO EM SAÚDE COMO FERRAMENTA PARA A PROMOÇÃO DE SAÚDE EM PORTADORES DE DIABETES ATENDIDOS NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UFTM 99

LEONARDO F DA SILVA
ALESSANDRA M DE SOUZA
CAMILA V FERREIRA
CINTIA C ANDRADE
DANIELA V GIACONE
ELIENE M DE LIRA
JACIARA TA ALVARENGA
JOSIANE F DOS SANTOS
LUCIANA D MARQUES
NAYLA C VITOI
PATRÍCIA N DA SILVA
THIAGO O SANTOS

CAPÍTULO 13

MODELAGEM E IMPRESSÃO 3D DE MODELOS ANATÔMICOS PARA O ENSINO DE ANATOMIA EM CURSOS DE GRADUAÇÃO 108

LUIZ E LISBOA
CAMILA DE M RIBAS
CAROLINA P ARCE
JOSÉ A FOGGIATTO
MÁRCIO H DE S CARBONI
MARCELLO MACHADO
MARIA FP TORRES

CAPÍTULO 14

EPIGENÉTICA: O PROCESSAMENTO DA INFORMAÇÃO GÊNICA POR MEIO DOS MECANISMOS EPIGENÉTICOS, ASSIMILAÇÃO CELULAR E SUAS IMPLICAÇÕES BIOLÓGICAS 121

MÍSIA H DA S FERRO
ANA KF DE PAULA

CAPÍTULO 15

ALERGIA ALIMENTAR AO LEITE DE VACA: DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO..... 136

POLIANA A DE QUEIROZ
MARCIA FM SANTOS
JOSÉ AF CARDOSO

CAPÍTULO 16

RADIOPROTEÇÃO NA ÁREA BIOMÉDICA 148

TERESA C S LEAL
ALAERCIO A OLIVEIRA

CAPÍTULO 17

IMPORTÂNCIA DAS ESTRATÉGIAS DE CONTROLE VETORIAL PARA COMBATE E PREVENÇÃO DO MOSQUITO *Aedes aegypti* EM NOVO HAMBURGO – RIO GRANDE DO SUL 162

TIAGO S CARVALHO
JÚLIA R SCHUCH
FABIANA T DE S HACK
PAULO H SCHNEIDER

CAPÍTULO 18

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA PROVENIENTE DE ESCOLAS LOCALIZADAS NA REGIÃO METROPOLITANA DE BELÉM – PARÁ 174

VITÓRIA BJ VIANA
KARLA TS RIBEIRO

CAPÍTULO 19

JEJUM INTERMITENTE BENEFÍCIOS E MALEFÍCIOS A CURTO E LONGO PRAZO..... 182

CARLA MOREIRA
STEFÂNIA RODRIGUES
VITÓRIA DE OLIVEIRA
ANGEL RENARO

CAPÍTULO 20

AVALIAÇÃO IMUNOTOXICOLÓGICA DA PROLE ORIUNDA DA UTILIZAÇÃO DE REPELENTE CONTENDO IR3535 DURANTE A GESTAÇÃO E AMAMENTAÇÃO EM RATAS WISTAR 192

VICTORIA C CAVALARI
STEPHANIE KILIM
JOÃO LC RIBAS

CAPÍTULO 21

ATIVIDADE IMUNOMODULADORA DE PECTINAS DAS CASCAS DE GOIABA (*Psidium guajava* L.) EM CULTIVO PRIMÁRIO DE MACRÓFAGOS..... 204

VICTORIA C CAVALARI
HELLEN P BERTASSO
LUCIA C VRIESMANN
JOÃO LC RIBAS

CAPÍTULO 22

COMPETÊNCIAS GRUPAIS DE BIOMÉDICOS NA GESTÃO DE HOTELARIA HOSPITALAR 216

ROSELI DELFINO
PAULA SS KUABARA

CAPÍTULO 23

CRESCIMENTO DA ESPÉCIE *Bacillus oleronius* SOBRE DIFERENTES CONDIÇÕES UTILIZANDO COMO CONTAMINANTE O MERCÚRIO ZERO E RESÍDUOS DE LÂMPADAS FLUORESCENTES 228

LUARA LUPEPSA
DURINÉZIO J DE ALMEIDA
BRUNO V ALMEIDA
PABLO A BARBIERI
FÁBIO L MELQUIADES

CAPÍTULO 24

PREVALÊNCIA DA DOENÇA DE CHAGAS AGUDA NO PARÁ ENTRE O PERÍODO DE 2007 – 2018 242

LARISSA DO SS BASTOS
LUCAS A FERREIRA

CAPÍTULO 25

CARACTERIZAÇÃO DOS DESCARTES DE HEMOCOMPONENTES NO HEMOCENTRO DE RIO BRANCO-ACRE 249

GABRIELA D MENEZES
AMANDA MS DO NASCIMENTO
GILBERTO B DOS S JÚNIOR
LÍLIA RF DA SILVA
MARLICE A DE LIMA
MADELLEYNNE DE SC SOARES

CAPÍTULO 26

PERFIL FITOQUÍMICO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA E MODULADORA DO EXTRATO ETANÓLICO DOS FRUTOS DE *Capsicum frutescens L.* (Solonaceae) 268

BÁRBARA F MELO
RAUL S ANDREZA
FABÍOLA FG RODRIGUES
JOSÉ GM COSTA

CAPÍTULO 27

ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS BROMATOLÓGICAS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DAS FOLHAS DE *Moringa Oleífera* Lam. (MORINGACEAE)..... 283

MARIA IM DOS SANTOS
LUCIANE V SANTOS
RAUL S ANDREZA
FABÍOLA FG RODRIGUES

CAPÍTULO 28

ESTUDO DA SÍFILIS GESTACIONAL NO ESTADO DO PARÁ NO PERÍODO DE 2009 A 2018 291

LYZANDRA PM SANTOS
RAFAELA M RIBEIRO
LARISSA DO SS BASTOS
TINARA LS AARÃO
LUCAS A FERREIRA

CAPÍTULO 29

Pycnoporus sanguineus: UM FUNGO PROMISSOR PARA REMEDIAÇÃO DE CHUMBO EM CORPOS HÍDRICOS 303

RAFAYLA C VOLOCHATI
DURINÉZIO J DE ALMEIDA
BRUNO V ALMEIDA
FABIO L MELQUIADES
FILIPE Q MARIANI

CAPÍTULO 30

PANORAMA DO ACONSELHAMENTO GENÉTICO NO BRASIL 314

AIRTON LS DOS SANTOS
ANA C DE M GUIMARÃES
JOSÉ H DA CUNHA
FRANCISCO A DA R COELHO
LETÍCIA DA S QUEIROZ
PALOMA M DE S ARAUJO
VANESSA DOS S BRITO
WESLEY R DA SILVA
FABIO JN MOTTA
RENATA CANALLE

CAPÍTULO 31

EVOLUÇÃO DO SARAMPO E REEMERGÊNCIA NA REGIÃO NORTE 324

AIRTON LS DOS SANTOS
ANA C DE M GUIMARÃES
FRANCISCO A DA R COELHO
LETÍCIA DA S QUEIROZ
PALOMA M DE S ARAUJO
VANESSA DOS S BRITO
WESLEY R DA SILVA
ALDENORA MX RODRIGUES

CAPÍTULO 32

ASPECTOS GENÉTICOS DA MEMÓRIA DE TRABALHO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA..... 337

KLAYANE M DE C CARVALHO
BÁRBARA R DE M PINHEIRO
VANESSA G DE SOUSA
VALECIA NC DA SILVA
HOANNA IR CASTRO
ANTONIO T DE OLIVEIRA

CAPÍTULO 33

ALOPECIA ANDROGÉNICA PREMATURA: UMA ALERTA PARA OUTROS PROBLEMAS.....350

MARIA LN DA SILVA
FÁTIMA CORREIA
MARINELLE PL PAGKALIS
RAFAELA F MONTANUCCI
PATRÍCIA DOMÍNICO

CAPÍTULO 34

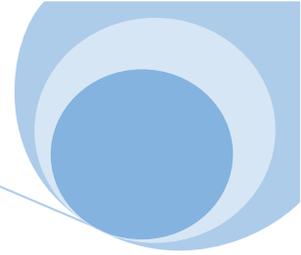
A IMPORTÂNCIA DA BIOMEDICINA NO TRATAMENTO DA OBESIDADE INFANTIL357

MARIA LN DA SILVA
MILLENA S MARCILIO
MARIA EO DE SOUZA
GABRIELA FG PINTO
PATRÍCIA DOMINICO

CAPÍTULO 35 (Destaque)

IDENTIFICAÇÃO DE ENTEROPARASITAS EM ALFACES DE CULTIVO TRADICIONAL E HIDROPÔNICO PROVENIENTES DE FEIRAS LIVRE .. 363

NAJARA L DA SILVA
FRANCIARLI DA S PAZ
MAYRA S DA SILVA
RAISSA X FERREIRA
LÍLIA RF DA SILVA
HEMESON L DE MOURA
ANNE CM DE VASCONCELOS
MADELLEYNNE DE SC SOARES



Capítulo 1

TÉCNICAS EXPERIMENTAIS PARA MELHORAR COMPATIBILIDADE DE TRANSPLANTES AUTÓLOGOS E ALOGÊNICOS EM TERAPIA CELULAR

André LA Reis¹, Beatriz E Borges²

¹Graduando em Biomedicina, Faculdades Pequeno Príncipe, Curitiba/PR.

²Doutora em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Docente dos cursos de Medicina e Enfermagem da Faculdades Pequeno Príncipe, Curitiba/PR.

1. INTRODUÇÃO

A terapia celular é uma das áreas da Medicina Regenerativa, sendo uma técnica já utilizada internacionalmente, apesar das discussões bioéticas e biotecnológicas sobre seu uso clínico (ACERO, 2015). O principal uso terapêutico das células-tronco (CT) possui relação com seu potencial angiogênico, ou seja, sua capacidade de criar vasos sanguíneos, que pode auxiliar em quadros de doenças arteriais, coronárias, isquemias crônicas e outros estados patológicos. Esta terapia pode, também, ser utilizada em diversas outras áreas da medicina geral, apresentando diversos benefícios ao paciente (RAMÍREZ, 2017).

As CT possuem algumas propriedades que justificam seu uso clínico, como sua atuação na regeneração de tecidos adjacentes e a produção de fatores no espaço extracelular, dentre eles citocinas, fatores de crescimento, exossomos, microvesículas e miRNA. Tais fatores mediam a ação regenerativa, diferenciação e crescimento dos enxertos (EZQUER *et al.*, 2017).

Clinicamente, o transplante autólogo, realizado com células do próprio paciente, geralmente extraídas da medula óssea, é mais comum. Este tipo de transplante, entretanto, apresenta uma baixa segurança, pois o enxerto evade a supressão do sistema imune e possui altas chances de tornar-se tumorigênico. Para diminuir estes riscos, surgiram recentemente pesquisas que buscam tornar o transplante alogênico, ou seja,



com CT extraídas de doadores, apto para a terapia. O principal desafio com este tipo de transplante é encontrar indivíduos compatíveis (DANIEL-MORENO *et al.*, 2019). Dessa forma, as principais pesquisas na área atualmente possuem relação com o uso da edição genética para induzir a compatibilidade (TROUNSON; BOYD & BOYD, 2019).

2. METODOLOGIA

Foi realizado um levantamento de dados bibliográficos sobre o tema, com o objetivo de produzir uma revisão integrativa capaz de apresentar as informações coletadas de maneira concisa e clara, visando auxiliar futuros estudos. As bases de dados utilizadas foram *Pubmed*, *ScienceDirect* e *Scielo*, sendo utilizados os seguintes descritores e suas combinações, em português e inglês: terapia celular, medicina regenerativa, terapia gênica, célula-tronco e CRISPR-Cas9. Foram utilizados 10 artigos para a produção do texto completo, datados de 2015 a 2019, dos quais sete foram utilizados para discussão, estes datados de 2017 a 2019. Os critérios de inclusão foram: artigos recentes que tenham sido publicados em português, inglês ou espanhol com informações relevantes sobre o tema pesquisado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os sete artigos escolhidos para produção dos resultados foram escolhidos, pois apresentam estudos experimentais envolvendo o uso da edição genética no transplante alogênico de células-tronco. A amostra final de resultados deste levantamento está contida no Quadro 1.

Argani (2019) discute os usos da engenharia genética dentro da medicina regenerativa. Segundo o autor, as células-tronco podem ser editadas tanto para remoção de genes que definem algum tipo de doença – técnica que pode ser utilizada para cura de doenças genéticas do sistema de diferenciação das células sanguíneas –, quanto para adição de tais genes, de forma que pesquisadores possam cultivar células doentes, estudando a evolução dos danos e possíveis tratamentos. No uso clínico, a edição genética pode auxiliar os profissionais da saúde a realizarem autotransplantes mais seguros, estudando a forma como o enxerto pode evoluir mesmo sem tê-lo

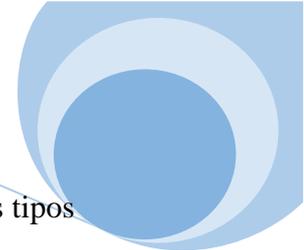


transplantado. Esta técnica pode garantir maior aplicabilidade dos transplantes alogênicos que já são realizados atualmente.

Quadro 1. Resultados da revisão bibliográfica

Autores/ano	Técnica	Benefícios	Riscos
Argani H., 2019	Uso do CRISPR-Cas9, buscando corrigir erros genéticos	Tratamento de doenças genéticas; técnica de fácil utilização	CRISPR-Cas9 apresenta muitos efeitos não desejados
Daniel-Moreno A.; et al, 2019	Edição e transplante de células-tronco alogênicas	Aumento do tempo de vida útil; baixa rejeição	CRISPR-Cas9 é considerado inseguro
Deuse T.; et al, 2019	Inativação do complexo MHC	Transplante com baixa imunogenicidade	Alto risco de formação de tumores malignos; destruição por células NK
Ezquer F. E.; et al, 2017	Pré-condicionamento da célula, tornando-a mais resistente à ação imune; Pré-condicionamento do tecido, tornando-o mais receptivo ao transplante	Transplante com maior tempo de vida útil no organismo; maior eficácia da terapia celular	Não citados
Gornalusse G. G.; et al, 2017	Inativação do complexo MHC combinada a expressão de HLA-E	Não dispara nenhuma resposta imunológica; proteção contra tumores	Necessidade da inclusão de um gene suicida
Liang Q.; et al, 2018	Edição e mescla de genes de divisão celular e apoptose	Aumenta a segurança do transplante contra tumores	São necessárias mais células que em outras soluções
Xu H.; et al, 2019	Edição dos genes HLA expressos, buscando aumentar a compatibilidade entre o tecido doador e receptor	Alta compatibilidade imunológica, baixa rejeição	Risco de formação de tumores não é conhecido

Os transplantes autólogos são realizados com o uso de células-tronco mesenquimais, geralmente induzidas à pluripotência, extraídas do próprio paciente que as receberá. Estas células podem ser retiradas da medula óssea, tecido adiposo e do

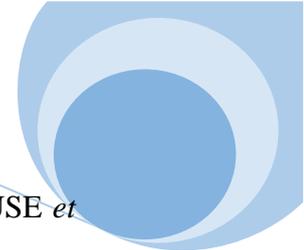


sangue do cordão umbilical e possuem técnicas de cultura mais simples que outros tipos (EZQUER *et al.*, 2017).

Daniel-Moreno *et al.*, (2019) discute sobre a forma como a edição genética pode ser utilizada para aumentar a segurança dos enxertos de células-tronco, mas um maior foco nos transplantes alogênicos, que são realizados com células provenientes de doadores. De acordo com o autor, este tipo de transplante apresenta diversos benefícios, principalmente no tratamento de doenças genéticas, mas também possui limites quanto à compatibilidade do HLA. O HLA, ou antígeno leucocitário humano, é um conjunto de proteínas sintetizadas através de genes específicos do complexo de histocompatibilidade que reconhece as células do próprio corpo, diferenciando-as em seus respectivos tecidos (ABBAS; LITCHMANN & PILLAI, 2019). Apenas uma média mundial de 30% da população possui chances de encontrar outro indivíduo com um HLA compatível, com diferenças nesta média entre grupos étnicos distintos, o que diminui muito os possíveis casos de uso do transplante alogênico de células-tronco (DANIEL-MORENO *et al.*, 2019).

Por conta dessas complicações, o transplante autólogo é mais utilizado. Neste tipo de transplante, são utilizadas células do próprio paciente, que são cultivadas e convertidas em células-tronco pluripotentes induzidas, sendo estas, então, editadas para remoção do gene responsável pela doença, e reimplantadas após diferenciação. Esta técnica é muito usada em casos de doenças monogênicas (ARGANI, 2019). Enquanto a pesquisa de Argani (2019) foca na engenharia genética com foco em transplante autólogos, Daniel-Moreno *et al.*, (2019) coloca maior foco nos transplantes alogênicos, explorando como a edição do complexo HLA, diminuindo a expressão de determinadas proteínas, pode aumentar a compatibilidade entre o enxerto e o paciente receptor.

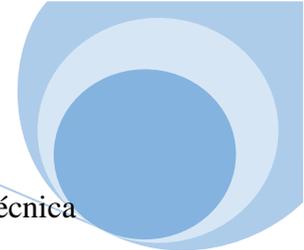
Deuse *et al.*, (2019), propõe uma solução mais radical para o transplante alogênico: a adição do gene CD47 nas células em cultura, promovendo a codificação de proteínas que protegem a célula da ação imune, impedindo que macrófagos as reconheçam como não-próprias, de forma a manter um enxerto sem imunogenicidade e com mínima chance de rejeição em pacientes imunocompetentes. Entretanto, mesmo estes enxertos apresentam suscetibilidade à destruição por células natural *killers*, além disso, as células com este gene, por não serem percebidas pelo sistema imune, possuem um alto risco de transformação maligna, ou seja, formação de tumores. O autor, em sua pesquisa, demonstra que um caminho para diminuir a necessidade de imunossupressão esteja na modificação da imunogenicidade do enxerto, mas também aponta que tal



estratégia tem muitos riscos que ainda não foram completamente superados (DEUSE *et al.*, 2019).

Outra pesquisa que também busca a supressão do MHC de células alogênicas é a de Gornalusse *et al.*, (2017). Os autores trabalharam com a quebra do gene Beta-2 Microglobulina (B2M), eliminando toda a expressão do HLA na superfície da célula, mas deixando a célula vulnerável a lise por natural killers, de modo semelhante à pesquisa de Deuse *et al.*, (2019). Além disso, as células testadas desse modo apresentaram crescimento muito abaixo do esperado. Para evitar a lise mediada por *natural killers*, o gene B2M foi editado, de forma a expressar HLA-E de forma controlada, através do uso de um mediador viral. Os resultados da pesquisa apontam que as células editadas dessa forma se tornam resistentes à ação linfocitária, não apresentam ligação a antígenos anti-HLA e são também resistentes as células *naturalkillers*. Isso ocorre porque as células editadas para expressarem o HLA-E são reconhecidas pelo organismo como autólogas, ao mesmo tempo em que não apresentam imunogenicidade por ação de linfócitos, já que não há expressão de outros HLA. Além disso, as células editadas apresentaram a mesma taxa de crescimento que células não editadas. Um importante ponto negativo desta estratégia é que a expressão de HLA-E em conjunto com B2M impede a ação apresentadora de antígeno do HLA, tornando o implante pouco seguro. Os autores finalizam sua discussão apresentando algumas considerações sobre a necessidade da inclusão de um gene suicida nestas células, pois não é seguro implantar células com uma imunogenicidade tão baixa em pacientes, visto o alto risco de mutação. O gene suicida utilizado na pesquisa foi o TK (timidina quinase), em conjunto com uma extensa preparação e testagem pré-clínica do comportamento das células (GORNALUSSE *et al.*, 2017).

Lianget *al.*, (2018) também aponta a necessidade de uso de genes suicidas na terapia celular. Os autores desta pesquisa criaram uma conexão entre o gene de divisão celular CDK1 e o gene suicida TK, proveniente do vírus da herpes simples, denominando tal complexo de Sistema de Segurança Celular (LIANG *et al.*, 2018). O uso do gene TK pode, no entanto, ter uma difícil aplicação clínica, especialmente quando utilizado com iPSCs autólogas (GORNALUSSE *et al.*, 2017). Para evitar que as células sofram apoptose ao se dividirem, o complexo dos genes foi editado para ser ativado apenas na presença de uma droga que induza seu funcionamento. Dessa forma, quando ocorre ativação do sistema de segurança, o gene TK é ativado, e a divisão celular resulta em apoptose (LIANG *et al.*, 2018). É interessante notar a similaridade



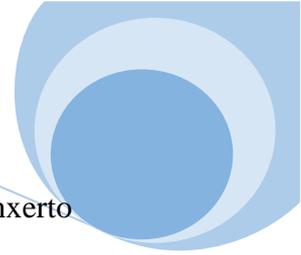
das pesquisas de Gornalusse *et al.*, (2017) e a de Lianget *et al.*, (2018), pois a técnica apresentada pelos autores da segunda pesquisa pode ser usada para contornar o problema enfrentado pela remoção da expressão de HLA, aumentando, dessa forma, a segurança do enxerto de células-tronco.

O sistema de segurança celular apresenta uma alternativa com poucos riscos para a terapia celular, sendo que os maiores desafios enfrentados por essa estratégia são a necessidade de um maior número de células para realização da edição, já que as células devem passar por um controle de qualidade que verifique tanto sua capacidade de crescimento e diferenciação, quanto sua imunogenicidade e suscetibilidade ao uso da droga que induz apoptose (LIANG *et al.*, 2018).

A pesquisa mais recente analisada foi a de Xu *et al.*, (2019), que, além de apresentar alguns dos autores anteriormente mencionados, também apresenta uma estratégia, dividida em duas etapas principais, que pode auxiliar na busca de uma maior compatibilidade em transplantes alogênicos. A primeira baseia-se na edição genética de alelos específicos em células de doadores que possuam HLA heterozigoto, induzindo uma pseudo-homozigose, de forma a diminuir o número de doadores necessários. A segunda consiste na exclusão do HLA-A e HLA-B e a manutenção de um único haplótipo do HLA-C, visando o aumento da compatibilidade entre doador e receptor. Dessa forma, a célula não sofre ação dos linfócitos T nem de *natural killers*, enquanto mantém a expressão de HLA com capacidade de realizar apresentação de antígenos. De acordo com os autores, através desses métodos, é possível criar uma solução que aumente a compatibilidade do transplante para até 90% entre todos os grupos étnicos (XU *et al.*, 2019).

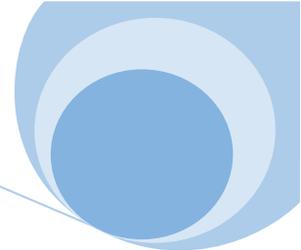
Em sua discussão, os autores pontuam que, apesar da integridade do genoma ter sido mantida após as constantes edições do genoma celular das células-tronco, o risco de tumorigênese ainda deve ser verificado, pois células que possuem o HLA editado podem tornar-se invisíveis para o sistema imune, sendo que, dessa forma, ao sofrerem uma mutação, não seriam atacadas da mesma forma que células não editadas seriam (XU *et al.*, 2019).

Ezquer *et al.*, (2017) buscou uma abordagem mais histológica em sua pesquisa, utilizando a edição e a reprogramação genética como forma de modular o enxerto a possuir maior resistência ao microambiente hostil do tecido. Os autores inicialmente investigaram quais estímulos as células transplantadas recebem, dessa forma, inserindo o enxerto em um meio molecular específico que contribua para seu desenvolvimento e



uso terapêutico. Além disso, técnicas para verificar a interação fisiológica entre enxerto e tecido receptor foram utilizadas para identificação de moléculas que possam fazer com que as células-tronco se tornem mais resistentes. O uso dessa técnica, no entanto, deve ser realizado em conjunto à preparação do paciente, de forma que o tecido receptor possa ser menos hostil ao transplante. Segundo os autores, isso pode ser feito através de tratamentos prévios que diminuam o risco de apoptose das células transplantadas, bem como através de imunossupressão (EZQUER *et al.*, 2017).

Apesar das tentativas dos autores em identificar métodos e técnicas que possam diminuir os problemas relacionados à terapia celular, nenhum tipo de terapia clínica é completamente seguro. Em todas as estratégias analisadas, o risco de formação de tumores ainda é a principal barreira para a aplicação clínica satisfatória da edição genética. Apesar disso, analisando as pesquisas, é possível perceber que as mesmas se complementam, de forma que a união de diferentes estratégias pode criar uma técnica mais segura para o uso clínico, com o objetivo de garantir o sucesso da terapia e uma melhor qualidade de vida para o paciente.



4. REFERÊNCIAS

ABBAS A. K.; LITCHMAN A. H.; PILLAI S. *Imunologia celular e molecular*. 9a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2019.

ACERO L. Internacionalização, ciência e saúde: a medicina regenerativa global e os mercados paralelos. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 20, n. 2, p. 433–440, 2015.

ARGANI H. Genome engineering for stem cell transplantation. *Experimental and Clinical Transplantation*, v. 17, Supplement 1, p. 31–37, 2019.

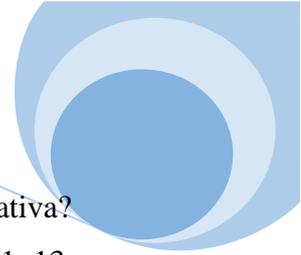
DANIEL-MORENO A.; *et al.* CRISPR/Cas9-modified hematopoietic stem cells—present and future perspectives for stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, p. 1-11, 2019.

DEUSE T.; *et al.* Hypoimmunogenic derivatives of induced pluripotent stem cells evade immune rejection in fully immunocompetent allogeneic recipients. *Nature Biotechnology*, v. 37, n. 3, p. 252–258, 2019.

EZQUER F. E.; *et al.* Two complementary strategies to improve cell engraftment in mesenchymal stem cell-based therapy: Increasing transplanted cell resistance and increasing tissue receptivity. *Cell Adhesion and Migration*, v. 11, n. 1, p. 110–119, 2017.

GORNALUSSE G. G.; *et al.* HLA-E-expressing pluripotent stem cells escape allogeneic responses and lysis by NK cells. *Nature Biotechnology*, v. 35, n. 8, p. 765–772, 2017.

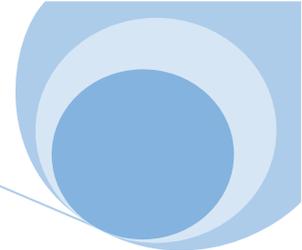
LIANG Q.; *et al.* Linking a cell-division gene and a suicide gene to define and improve cell therapy safety. *Nature*, v. 563, n. 7733, p. 701–704, 2018.



RAMÍREZ P. H. ¿Es realmente útil el tratamiento con la terapia celular regenerativa? Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia, v. 33, n. 1, p. 1–13, 2017.

TROUNSON A.; BOYD N. R.; BOYD R. L. Toward a universal solution: editing compatibility into pluripotent stem cells. Cell Stem Cell, v. 24, n. 4, p. 508–510, 2019.

XU H.; *et al.* Targeted disruption of HLA genes via CRISPR-Cas9 generates iPSCs with enhanced immune compatibility. Cell Stem Cell, v. 24, n. 4, p. 566-578, 2019.



Capítulo 2

CETOACIDOSE COMO COMPLICAÇÃO DA DIABETES *MELLITUS* EM ADULTOS REVERTIDA POR INSULINATERAPIA

FERREIRA, I. R.¹, MENDES, L. C.²

¹Graduada em Biomedicina na Faculdade Presidente Antônio Carlos de Uberlândia/MG.

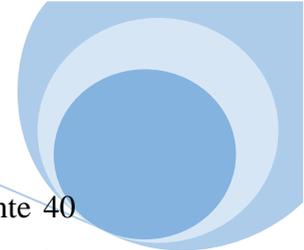
²Mestre em Engenharia Biomédica pela Universidade Federal de Uberlândia/MG.

1. INTRODUÇÃO

Cetoacidose Diabética (CAD) é uma das principais e mais graves complicações que podem ocorrer durante a evolução do Diabetes *Mellitus* Tipo 1 (DM1) e Diabetes *Mellitus* Tipo 2 (DM2). Os dois tipos resultam da hiperglicemia que é proveniente de falhas na secreção ou ação da insulina. A CAD é uma situação clínica frequente responsável por 25 a 50% dos óbitos em pacientes diabéticos (GROSS *et al.*, 2002).

O Diabetes tipo I está relacionado com a destruição das células betas que compõem 65% das ilhotas presentes no pâncreas que são responsáveis pela secreção de insulina. Com a grande concentração de glicose no sangue, o paciente torna-se insulín-dependente, necessitando realizar aplicações de doses diárias de insulina por tempo indeterminado. Sua causa ainda é desconhecida, porém há suspeita que sua origem possa ser genética ou autoimune, podendo ocorrer em qualquer idade (GRECO-SOARES & DELL'AGLIO, 2017).

No Diabetes tipo II, o pâncreas pode produzir o hormônio insulina em baixa quantidade ou não efetua sua produção. Entretanto, quando isso ocorre, o organismo não consegue absorvê-lo adequadamente por falhas presentes após algum tempo de degradação nas células beta pancreáticas levando o paciente a tornar-se insulín-dependente (PETERMAN *et al.*, 2015).



O Diabetes está presente principalmente entre adultos de aproximadamente 40 anos, acima do peso, sedentário e fumante. Devido aos maus hábitos de vida, sedentarismo e rotina de vida estressante, esta doença vem se desenvolvendo visivelmente entre adultos jovens. Os principais sintomas são: sede, fome e poliúria, sendo na DM2, na maioria das vezes, assintomática (BRASIL, 2006).

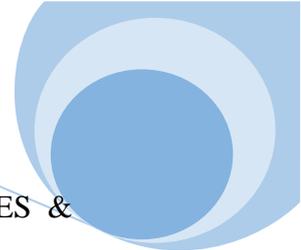
O tratamento para cada tipo de diabetes é variado de acordo com o organismo de cada paciente. No DM1 o paciente irá tomar injeções de insulina para o resto da vida, enquanto no DM2 o paciente irá tomar corretamente todos os medicamentos prescritos pelo médico, em alguns casos juntamente com injeções de insulina (HAMMERSCHMIDT, 2010; GRILLO *et al.*, 2013).

Como consequência da falta de controle ou maus cuidados do diabetes desencadeia-se as complicações provocando de forma exagerada o aumento de açúcar no sangue, conseqüentemente, causando lesões em todo o corpo, principalmente olhos, rins, vasos sanguíneos, coração e nervos. Portanto, estas complicações podem ser evitadas com o controle regular da glicemia, práticas regulares de atividade física e dieta regular com acompanhamento de um profissional (GLASER *et al.*, 2004; KITABCHI *et al.*, 2004).

A Cetoacidose Diabética está relacionada ao Diabetes *Mellitus* tipos I e II (DM1 e DM2) devido condições de distúrbios causados pela doença. Caracteriza-se por hiperglicemia, hipercetonemia e acidose metabólica, sendo sua predominância na DM1, causando náuseas, vômitos e dor abdominal, podendo evoluir para edema cerebral, coma e morte (DE BEER *et al.*, 2008; KITABCHI *et al.*, 2009).

O tratamento da CAD envolve reposição de insulina e prevenção de hipocalcemia. A deficiência de insulina pode ser absoluta, causada por colapso de administração ou quando doses diárias não suprirem as necessidades metabólicas. Já no DM2 a CAD é menos comum, porém, pode haver casos de complicações devidas situações de estresse fisiológico no dia-a-dia (GREENBERG *et al.*, 2004; ROSENBLOOM, 2005; ROSENBLOOM, 2007; DAMIANI, 2008; PIRES & LAGUNA-NETO, 2010).

A utilização da insulina para reversão da CAD é a técnica mais utilizada, isso por que promove correção da hiperglicemia e da acidose metabólica. A insulino terapia consiste no uso de insulina regular ou análogo de insulina ultrarrápida, podendo utilizar três principais vias de administração com capacidade de aproximadamente 60% á 100% de absorção, sendo elas: subcutânea (SC) e intravenosa (IV) (GREENBERG *et al.*,



2004; ROSENBLOOM, 2005; ROSENBLOON, 2007; DAMIANI, 2008; PIRES & LAGUNA-NETO, 2010).

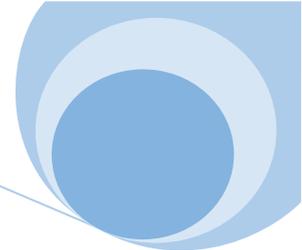
A hipocalemia está presente como complicação da CAD devido à saída do potássio do espaço intracelular na troca por íon de hidrogênio na célula provocada pela acidose. A insulina promove então direcionamento do potássio para o espaço intracelular, armazenando-o juntamente com a proteína e o glicogênio no tecido muscular (FLECKMAN, 1993; ARSLANIAN *et al.*, 1994).

O objetivo geral deste trabalho será compreender a insulino terapia como tratamento da cetoacidose diabética. Os objetivos específicos serão estudar a CAD como complicação da Diabetes *Mellitus* e entender o processamento da insulina no organismo afetado pela complicação. Este projeto foi realizado devido a presença da CAD no histórico de 50% dos diabéticos, levando a resultados do acompanhamento, tratamento e diagnóstico estudado devido a evolução do quadro clínico do paciente até sua total recuperação, podendo ir a óbito por falta do tratamento correto. Para o desenvolvimento do trabalho foi feita uma revisão bibliográfica, com a utilização de artigos científicos e livros específicos sobre a DM e a CAD.

2. HISTÓRICO DO DIABETES

Acredita-se que o termo diabetes tenha surgido em meados de 1.500 a.C., na Grécia Antiga e tenha o significado de “sifão”. A doença recebeu este nome por referir-se ao termo “passar através de um sifão”, que é comparado ao fato de poliúria, notado por Araeteus, discípulo de Hipócrates, que reconheceu a doença então como “mijar o mau”. Segundo estudos realizados por Thomas Willis séc. XVIII e Matthew Dobson séc. XVIII foi constatado que havia maior concentração de formigas, moscas e sabor adocicado na urina de pessoas com diabetes. A utilização do termo *mellitus* refere-se a abundante quantidade de urina com odor e sabor de mel notado no séc. XVIII por Cullen em 1769 (CLARKE & FOSTER, 2012).

Após vários estudos e avanços científicos, Joseph Von Mering e Oskar Minkowski em 1889, descobriram o papel do pâncreas no diabetes, observando cães cujo pâncreas havia sido retirado desenvolvendo todos os sintomas do diabetes. Em 1910, Edward Albert Sharpey Schafer concluiu que o diabetes sucede da falta de insulina, denominando de “insula latino”, que significa a “ilha”, fazendo referência á ilhotas de Langerhans no pâncreas (BRASIL, 2014).



3. DIABETES MELLITUS

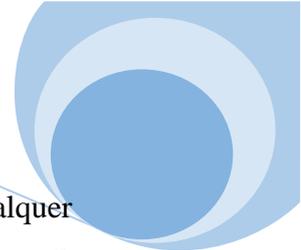
O diabetes *mellitus* (DM) consiste em um grupo de distúrbios metabólicos caracterizado por hiperglicemia persistente resultante de defeitos na secreção/produção de insulina e/ou em sua ação causando complicações em longo prazo. Os principais fatores dos tipos de DM são genéticos, biológicos e ambientais. É uma situação clínica que acomete cerca de 7,6% da população adulta entre 30 e 69 anos, observando-se tolerância a glicose em 12% dos indivíduos, sendo que cerca de 50% dos portadores desconhecem a doença (MALERBI & FRANCO, 1992; ATLAS, 2015).

A hiperglicemia é o termo utilizado para identificar altas taxas de açúcar presente no sangue, se manifestando por alguns sintomas como poliúria polidipsia, perda de peso, polifagia e visão turva em longo prazo. Além disso, de está associada a complicações crônicas micro e macrovasculares; redução da qualidade de vida, levando ao desenvolvimento futuro do diabetes; e causa alterações na homeostasia glicêmica (BARZILAV *et al.*, 1999).

A formação da insulina é um processo específico, pois o pâncreas secreta dois hormônios peptídicos de suma importância para o metabolismo humano, a insulina e o glucagon, os quais possuem função de regular o metabolismo da glicose, dos ácidos graxos e dos aminoácidos. Assim, as células endócrinas estão organizadas nas ilhotas de Langerhans que representam 1% a 2% da massa pancreática, onde as células betas compõem 65% da ilhota secretando a insulina. A insulina é sintetizada e secretada pelas células beta, além de ser um hormônio peptídico com duas cadeias lineares, cadeia A (21 aminoácidos) e cadeia B (30 aminoácidos). A sua deficiência está ligada a fatores envolvendo da formação até sua ação metabólica, tornando-se uma das principais causas que levará a diabetes *mellitus* (BILL *et al.*, 1980).

Na prevenção é necessário que haja diagnóstico precoce do diabetes *mellitus* e das alterações de tolerância à glicose permitindo que seja adotado as medidas necessárias para o início do tratamento. O diagnóstico é baseado principalmente nas alterações da glicose plasmática de jejum ou após ingestão de grande quantidade de açúcar via oral (TUOMILEHTO, 2001).

São aceitos desde 1997 critérios para diagnóstico da DM como, a utilização da glicemia, sendo coletada em jejum 120 minutos após a ingestão de glicose. A presença de sintomas de poliúria, polidipsia e perda ponderal acrescida de glicemia maior ou



igual a 200 mg/dL, compreendendo-se por glicemia capilar realizada a qualquer momento do dia também apresenta fortes características diagnósticas da doença. O resultado da glicemia em jejum deve estar maior ou igual a 126 mg/dL e é utilizado em caso de pequenas elevações de glicemia, confirmando o diagnóstico após repetição do exame (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2015).

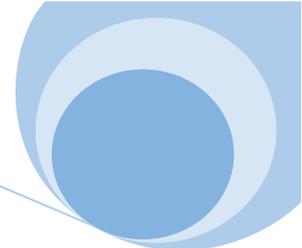
No DM a presença de alterações fisiopatológicas está presente antes das alterações de níveis glicêmicos, causando resistência à insulina que é produzida pelas células beta pancreáticas. A ausência de cuidados relativos aos fatores de risco da doença promove uma evolução frequentemente para a fase clínica, sendo na maioria das vezes assintomática, realizando o diagnóstico com base em exames laboratoriais como glicemia em jejum, TOTG (Teste de Tolerância a Glicose) e hemoglobina glicada (HbA1c) (KITABCHI *et al.*, 2009).

O DM tem sido responsabilizado por causar e contribuir em agravos na saúde do indivíduo por afetar direta ou indiretamente no sistema muscular, digestório, na função cognitiva, na saúde mental e metabólica, apresentando maior taxa de hospitalização em comparação com pessoas não diabéticas, como pode ser observado no Tabela 1 (GREGG; SATTAR & ALI, 2016).

Tabela 1. Estágios do DM.

	Estágios		
	1	2	3
Autoimunida de	Anticorpos positivos	Anticorpos positivos	Anticorpos positivos
Níveis glicêmicos para diagnósticos	Normoglicemia: glicemia de jejum; TOTG e HbA1c normais.	Disglicemia: níveis glicêmicos alterados, compatíveis com pré-diabetes (jejum entre 100 e 125 mg/dL, 2 h no TOTG entre 140 e 149 mg/dL, ou HbA1c entre 5,7 e 6,4%.	Hiperglicemia evidente e de início recente, critérios clássicos para diagnóstico de DM (glicemia de jejum de 126 mg/dL, 2 horas no TOTG 200 mg/dL, ou HbA1c 6,5%.
Sintomas	Ausentes	Ausentes	Presentes

Legenda: HbA1c: hemoglobina glicada; TOTG: teste oral de tolerância á glicose; DM: diabetes *mellitus*. **Fonte:** Retirado e adaptado de American Diabetes Association, 2017; INSEL *et al.*, 2015; OLIVEIRA & VENCIO, 2017.



3.1. Diabetes *mellitus* tipo I e tipo II

O diabetes *mellitus* apresenta formas frequentes, sendo elas os tipos I (DM1) e tipo II (DM2) referindo-se aos termos insulino dependentes e não dependente de insulina. O DM1 é autoimune, poligênica, decorrente da destruição das células beta-pancreáticas, ocasionando a deficiência da produção de insulina, correspondendo entre 5% a 10% dos casos de DM1, como acompanhado no Tabela 2 (AMERICAN, 2008; CHIANG *et al.*, 2014; INSEL *et al.*, 2015; KEMPPAINEN *et al.*, 2015; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2017).

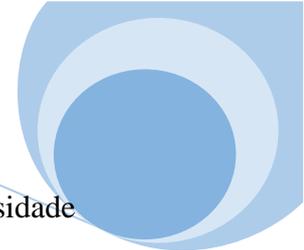
O diabetes *mellitus* tipo IA (DM1A) é a forma mais frequente de DM1, por positividade de um ou mais autoanticorpos, descrevendo forte associação com antígeno leucocitário humano DR3 e DR4. Envolve-se à predisposição genética desencadeando resposta imune, estando entre as principais associadas a DM1, como infecções virais e certas composições da microbiota intestinal (AMERICAN, 2008; CHIANG *et al.*, 2014; INSEL *et al.*, 2015; KEMPPAINEN *et al.*, 2015; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2017).

Tabela 2. Tipos de Diabetes.

1	Tipo 1A: deficiência de insulina por destruição autoimune das células betas comprovadas por exames laboratoriais; Tipo 1B: deficiência de insulina de natureza idiopática
2	DM Tipo 2: perda progressiva de secreção insulínica combinada com resistência à insulina.
3	DM gestacional: hiperglicemia de graus variados diagnosticada durante a gestação, na ausência de critérios de DM prévio.

Legenda: DM: diabetes *mellitus* ; MODY: Maturity-Onset Diabetes of the Young. **Fonte:** Adaptado de OLIVEIRA & VENCIO, 2017.

Os marcadores conhecidos de autoimunidade são os anticorpos anti-insulina, anticorpo antidescarboxilase do ácido glutâmico, anticorpo antitirosina-fosfatase IA-2 e anticorpo antitransportador de Zinco, causando a hiperglicemia que precede destes anticorpos que causam maiores chances de os indivíduos desenvolverem DM1. O início da doença em geral é bem abrupto, pois poderá ser descoberto com a cetoacidose diabética. Existe também o subtipo diabetes *mellitus*IB (DM1B) ou idiopático, neste



caso os autoanticorpos não são detectáveis na circulação sanguínea, tendo necessidade precoce de insulino terapia plena (AMERICAN, 2008; CHIANG *et al.*, 2014; INSEL *et al.*, 2015; KEMPPAINEN *et al.*, 2015; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2017).

O DM2 envolve componentes genéticos e ambientais acometendo indivíduos sedentários, com maus hábitos alimentares. Trata-se de uma doença com herança genética, destacando a obesidade como um dos fatores principais, correspondendo de 90% a 95% dos casos de DM. É uma doença lenta e progressiva, caracterizada pela falta de produção, ou produção parcial da insulina, desencadeando a hiperglicemia e a glicosúria (ASSUNÇÃO & URSINE, 2008; SKYLER *et al.*, 2017).

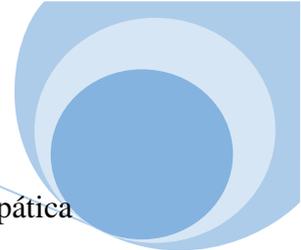
3.1.1. Cetoacidose diabética

Cetoacidose diabética (CAD) é uma complicação aguda decorrente do DM1 e DM2. Seu diagnóstico está presente entre 25% a 50% dos diabéticos. Esse conjunto de distúrbios metabólicos é proveniente de situações de deficiência insulínica com associação a condições estressantes (ISRAEL, 1989; KITABCHI *et al.*, 2009).

Os fatores que precipitarão a CAD são em sua maioria de natureza infecciosa aguda (respiratória, urinária, genital e cutânea), associada a falhas no tratamento insulínico inadequado ou interrompido de acordo com o paciente, influenciando também causas emocionais. Além disso, é necessário observar que o controle glicêmico insatisfatório em longo prazo, valores elevados de hemoglobina glicada, acidente vascular cerebral (AVC), ingestão excessiva de álcool, pancreatite aguda, infarto agudo do miocárdio (IAM), traumas e uso de glicocorticoides, são preditores da CAD (ISRAEL, 1989; NEWTON & RASKIN, 2004).

A utilização de drogas ilícitas principalmente a cocaína é uma causa de casos recorrentes da CAD, além de distúrbios psiquiátricos associados ao uso irregular diário de insulina e má condução de dieta. O uso frequente de antipsicóticos utilizados no tratamento de transtorno bipolar e esquizofrenia (como clozapina, olanzapina e quetiapina), aumentam a probabilidade de risco de desenvolver distúrbios metabólicos como obesidade, dislipidemia, DM e CAD (FREITAS & FOSS, 2003).

A cetoacidose e as alterações metabólicas ocorrem devido a perda do transporte de glicose para dentro dos tecidos periféricos como gordura e músculo, já que este



transporte depende de insulina. O aumento da gliconeogênese e glicogenólise hepática ocasiona a desinibição da quebra de gordura, proteínas e glicogênio, com a deficiência de insulina, ocasionando a hiperglicemia. Isso ocorre devido à diminuição da utilização periférica e aumento da produção hepática de glicose, enquanto a acidose se dá pela produção de corpos cetônicos pelo fígado que sofrem alterações. A hiperglicemia desencadeia glicosúria e poliúria, ocorrendo perda hídrica e conseqüentemente perda de eletrólitos e desidratação (COLLETTE – SOLBERG, 2001).

Com a redução de insulina circulante associada à liberação excessiva de hormônios contrarreguladores (glucagon, GH, glicocorticoides, catecolaminas, cortisol e hormônio do crescimento), gera-se o conhecimento da fisiopatologia básica da situação clínica da CAD. Na DM1 a deficiência de insulina pode ser absoluta e na DM 2 pode ser relativa, desencadeando aumento na produção hepática e renal. A hiperglicemia, então, é resultante da queda de utilização periférica de glicose, principalmente na musculatura, como aumento de sua produção endógena. É um componente característico fisiopatológico, que provoca a liberação excessiva de ácidos graxos e corpos cetônicos estimulados pela relação insulina-glucagon, justificando vários dos sintomas e sinais típicos da CAD, como polidipsia, poliúria, desidratação, náuseas, vômitos, perda de peso, torpor e coma (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2001; KITABCHI *et al.*, 2006; EDWARDS, 2008).

A hiperglicemia é resultante da ativação da gliconeogênese e da glicogenólise, e redução da glicose, principalmente nos músculos. A combinação entre deficiência de insulina e aumento de hormônios contrarreguladores provoca a liberação excessiva de ácidos graxos (lipólise), que são oxidados no fígado em corpos cetônicos (ácidos-beta-hidroxi-butírico e acetoacético). Este processo é estimulado principalmente pelo glucagon e pela redução da atividade de melanil coenzima A, que modula o transporte de ácidos graxos livres para dentro da mitocôndria dos hepatócitos para oxidação no sistema microssomal. Todo o processo possui como resultado final a cetonemia e acidose metabólica como descrito na Figura 1 (KOUL, 2009).

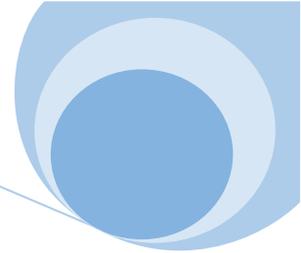


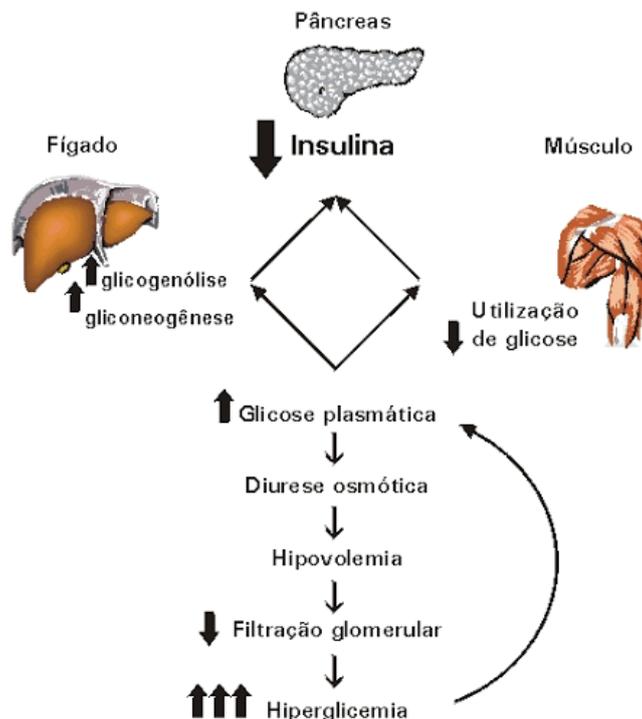
Figura 1. Efeito hormonal do metabolismo energético.



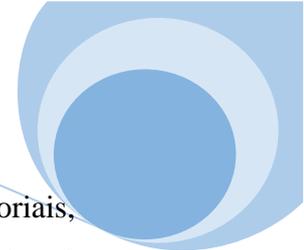
Fonte: Retirado de Jornal da Pediatria 2001.

A formação da CAD deve-se exclusivamente por junção de três fatores metabólicos essenciais: a Cetose, a Acidose e a Diabetes. A Cetose ou cetonemia, que resultará em presença em grande quantidade de cetonas em toda a corrente sanguínea, que será excretada principalmente pela urina. A acidose que é a queda de oxigênio nas células causando a produção excessiva de ácido lático na corrente sanguínea afetando principalmente os tecidos e a diabetes que ocasionará a hiperglicemia por deficiência na produção de insulina, de acordo com a Figura 2 (BARONE *et al.*, 2007).

Figura 2. Efeitos da deficiência de insulina.



Fonte: Retirado de Jornal da Pediatria 2001.



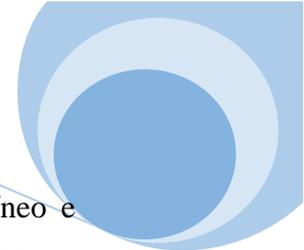
A CAD é diagnosticada a partir de exames físicos e laboratoriais, fundamentando-se do entendimento de toda situação clínica. O paciente típico de tal complicação busca por unidades de emergência por acentuação das alterações de consciência, crises convulsivas, respiração de Kussmaul, desidratação com pele seca e fria, agitação, pulso rápido e variação de pressão arterial (GLASER *et al.*, 2004).

Alguns dos exames laboratoriais são realizados para confirmação da CAD. E também são de rotina laboratorial e diagnóstica para várias doenças. Porém são de suma importância para identificação da CAD por fazer parte dos fatores metabólicos. O hemograma completo demonstra a hemoconcentração, desidratação, leucocitose e presença de infecção no paciente, já a amilase se eleva devido ao fato de redução de *clearance* no caso de insuficiência renal. O exame de EAS (Elementos Anormais e Sedimentos) demonstra a presença de cetonúria, que é possível fator desencadeante da CAD, além disso, demonstra também aumento na densidade urinária e albuminúria (BARONE *et al.*, 2007; WESTERBERG, 2013).

O potássio (K⁺) diminuído ou hipocalcemia diagnosticada é a principal justificativa para os vômitos (sintoma da CAD), relaciona-se com a depleção do sódio e presença de cetoácidos de carga negativa aumentando a perda urinária. A gasometria arterial demonstra a acidose metabólica, com visível diminuição do pH sanguíneo e do bicarbonato sérico, este exame também pode ser utilizado como meio indireto do diagnóstico da CAD (BARONE *et al.*, 2007; WESTERBERG, 2013).

A reposição de fluido constitui medida terapêutica prioritária na CAD, em pacientes com quadro clínico desidratado e com deficiência de sódio, potássio e cloro, como resultado de diurese osmótica. A expansão do volume extracelular com soluções endovenosa resulta em melhoria significativa da hiperglicemia e acidose metabólica devido a queda de hormônios contrarreguladores. Durante a reposição volêmica é indicado o uso de solução colóide em pacientes hipotensos, ocorrendo a perda de solução de eletrólitos, sendo mais recomendado o uso de solução fisiológica, uma solução cristalóide (KITABCHI *et al.*, 2004; PEREL & ROBERTS, 2007).

A avaliação laboratorial deve incluir alguns exames essenciais para determinação da CAD. Deve haver a determinação de glicose plasmática, fósforo, ureia, creatinina, cetonemia e eletrólitos. Os exames laboratoriais solicitados com maior frequência para o início de tratamento são: glicemia, que irá determinar critérios de definição quantitativa de açúcar no sangue; glicosúria/cetonúria, que irá indicar se há auto índice de cetonas circulantes; eletrólitos, que será utilizada para indicar se há



desidratação grave no paciente; gasometria arterial, para análise do pH sanguíneo e bicarbonato; podendo também ser solicitado radiografia do tórax para análise fisiológica dos tecidos afetados (DHATARIYA & UMPIERREZ, 2017).

O tratamento da CAD é lento. Para que o organismo se restitua completamente da complicação, é realizada a correção de distúrbios endócrinos metabólicos e ácido básico do paciente. Inicia-se o tratamento com infusão salina isotônica de cloreto de sódio (NaCl) 0,9% via endovenosa (EV), graduando para solução salina hipotônica de NaCl 0,455 (KITABCHI, 2006).

A fluidoterapia isolada não reverte a acidose imediatamente. Nesse caso é necessário o uso da insulina exógena para tratamento, atuando de modo multifatorial inibindo a ação de glucagon no organismo. Além disso, a insulino terapia inibe a liberação de ácidos graxos e diminui a cetogênese. A utilização de baixas doses de insulina por via subcutânea ou intramuscular promove um equilíbrio de queda linear entre 80-150 mg/dL/hora utilizada em pacientes com até 70 anos, prevalecendo a preferência da utilização de baixas doses no tratamento (FERREIRA *et al.*, 1998; CASTRO; MORCILLO & GUERRA-JUNIOR, 2008).

3.2. Insulinoterapia

A insulina é um hormônio fisiológico que atua em várias funções, especialmente no transporte de glicose. Assim, auxilia na entrada das células; induz a síntese proteica, compõem lipídeos, auxilia na sua transformação em ácidos graxos; e também ativa enzimas utilizadas em glicogênese, glicólise e glicogenólise (KOROLKOVAS & FRANÇA, 2010).

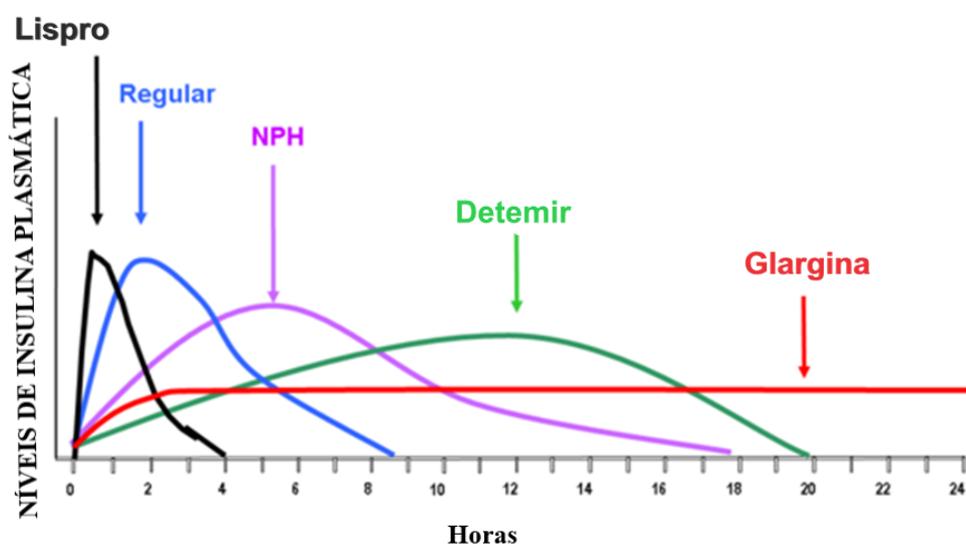
Os órgãos mais importantes na ação da insulina são fígado, músculo e tecido adiposo. O fígado faz depuração de 60% e os rins absorvem aproximadamente 35% do hormônio circulante. Além disso, são os órgãos que degradam a insulina no organismo causando a hipoglicemia, efeito adverso a hiperglicemia. Além disso, podem também haver relações alérgicas e efeitos inflamatórios no local da inflamação (KATZUNG, 2005; RANG *et al.*, 2011).

Para correção da hiperglicemia e acidose metabólica inicia-se a insulinoterapia. A infusão de insulina no tratamento da CAD é iniciada apenas quando o nível de potássio sanguíneo estiver baixo evitando arritmia. Na maioria das vezes a via de

administração de baixas quantidades de insulina associada a reposição salina tem excelentes resultados. Os pacientes que já realizam o uso diário de doses de insulina devem reintroduzir as mesmas doses realizadas antes do agravo da complicação, fazendo reajustes apropriados. Para os pacientes recém-diagnosticados devem-se realizar doses graduais, iniciando com 0,1 unidades/kg/hora de insulina. A insulino terapia consiste na realização da administração de insulina basal de ação prolongada 1 ou 2 vezes por dia e prandial de ação rápida de acordo com a glicemia capilar (KITABCHI *et al.*, 2001; NOYES *et al.*, 2007; MERLTA & WOLFSDORF, 2010).

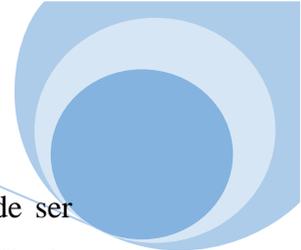
A insulina de ação rápida é utilizada em casos emergenciais, principalmente quando se trata da CAD. Induz a formação de dímeros de zinco, formando então hexâmeros de insulina, levando a início de ação que ocorre em tempo necessário para atingir seu pico de ação máximo, iniciando em 30 minutos aproximadamente, observado na Figura 3 (KATZUNG, 2005; RANG *et al.*, 2011).

Figura 3. Pico de ação das Principais insulinas.



Fonte: Adaptado de Associação Nacional de Atenção ao Diabetes, 2008.

As complicações mais frequentes da CAD são a hipoglicemia, hipocalemia, edema cerebral e a hiperglicemia, não dispensando a presença de outras complicações. A hipoglicemia desencadeia-se devido à administração excessiva de insulina durante a infusão da mesma. A hipocalemia é decorrente da insulino terapia e do tratamento de acidose com bicarbonato sem os cuidados necessários. O edema cerebral, apesar de rara,



está tornando-se mais frequente, e que na maioria das vezes pode ser fatal, pode ser ocasionada indiretamente pela insulinoterapia e uso de bicarbonato na reversão da CAD. A hiperglicemia torna-se uma complicação secundária pelo fato de ser um dos principais fatores de risco da CAD. É decorrente do manejo inadequado da administração da insulina EV contínua para subcutânea (SC) em várias doses diárias (KITABCHI *et al.*, 2004).

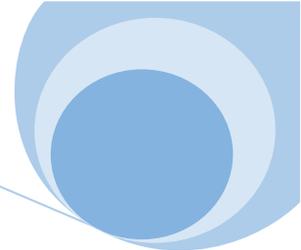
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em suma, foi possível verificar que a CAD acomete aproximadamente 25% a 50% dos diabéticos, afetando a qualidade de vida. A falta de acessibilidade à insulina e medicamentos relacionados a manutenção do Diabetes são comuns entre vários pacientes, além dos maus hábitos de vida.

Os fatores que preditam a CAD é comumente acessível como uso de drogas ilícitas, reações infecciosas, manuseio irregular de doses de insulina. A correção desta complicação é de difícil realização, pois necessita de reposição de eletrólitos além da infusão de insulina por via EV. Os exames laboratoriais são os principais métodos de certificar a presença da doença e de sua complicação como hemograma, TOTG, EAS, hemoglobina glicada, glicose de jejum e gasometria arterial. As consequências mais presentes na CAD são edema cerebral e hipocalemia e até mesmo óbito.

A CAD é basicamente uma das complicações mais graves que se presencia na Diabetes, causando um distúrbio complexo no metabolismo, levando a lesões teciduais e mentais. Desde que haja infusão de insulina via SC e EV, e reposição de eletrólitos.

Para que a CAD não esteja presente como complicação é necessário que haja acompanhamento de níveis glicêmicosanguíneos e capilares, realização de atividade física, acompanhamento médico adequado, além disso, é necessário apoio familiar para que o paciente tenha suporte psicológico e emocional.



5. REFERÊNCIAS

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*, v. 40, n. 15, 2017.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes *mellitus*. *Diabetes Care*, v. 38, Supplement 1, p. 8-16, 2015.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Hyperglycemic crises in patients with diabetes *mellitus*. *Diabetes Care*, v. 24, n. 1, p. 154 - 161, 2001.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*, v. 40, Supplement 1, p. 51-131, 2017.

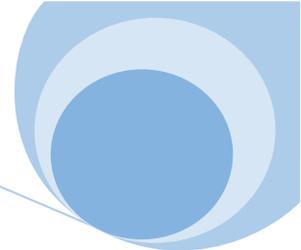
AMERICAN Teddy Study Group. The environmental determinants of diabetes in the young (Teddy) Study. *Annals of the New York Academy Science*, v. 1150, p. 1-13, 2008.

ARSLANIAN S.; *et al.* Diabetes *Mellitus* in the child and adolescent. In: KAPPY, M.; BLIZZARD, R.; MIGEON, C. J. The diagnosis and treatment of endocrine disorders in childhood and adolescence, p. 961-1026, 1994.

ASSUNÇÃO T. S.; URSINE P. G. S. estudo de fatores associados á adesão ao tratamento não farmacológico em portadores de diabetes *mellitus* assistidos pelo programa saúde familiar. *Ciência Saúde Coletiva*, v. 13, n. 2, p. 2189-2197, 2008.

BARONE B.; *et al.* Cetoacidose diabética em adultos- atualização de uma complicação antiga. *Arquivo Brasileiro Endocrinologia Metabólica*, v. 51, n. 9, p.1434-1447, 2007.

BARZILAV J. I.; *et al.* Cardiovascular disease in older adults with glucose disorders: comparisons of American Diabetes Association of Diabetes *Mellitus* with criteria. *Diabetes Care*, v. 35, n. 9, p. 622-625, 1999.



BILL G. I.; *et al.* Sequence of human insulin gene. *Nature*, v. 26, p. 284, 1980.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. *Diabetes mellitus - Cadernos De Atenção Básica*, Brasília, p. 94, 2006.

BRASIL. Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia – SBEM. *A história do Diabetes*, 2014.

CASTRO L.; MORCILLO A. M.; GUERRA-JUNIOR G. Cetoacidose diabética em crianças: perfil de tratamento em hospital universitário. *Revista Associação Médica Brasileira*, v. 54, n. 6, p. 548-553, 2008.

CHIANG J. L.; *et al.* Type 1 diabetes through the life span: a position. *Diabetes Care*, v. 37, n. 7, p. 2034-2054, 2014.

CLARKE S. F; FOSTER J. R. A history of blood glucose meters and their role in self-monitoring of diabetes *mellitus*. *Journal of Biomedical Science*. v. 69, n. 2, p.83-93, 2012.

COLLETTE-SOLBERG P. F. Cetoacidose diabética em crianças, revisão da fisiopatologia e tratamento com o uso de “método de duas soluções salinas”. *Jornal da Pediatria*, v.77, n.1, p. 9-16, 2001.

DAMIANI D. Complicações hiperglicêmicas agudas no diabetes melito tipo 1 do jovem. *Arquivo Brasileiro Endocrinologia Metabólica*, v. 52, n. 2, p. 367-374, 2008.

DE BEER K.; *et al.* Diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar syndrome: clinical guidelines. *Nurses Critical Care*, v. 13, n. 1, p. 5-11, 2008.

DHATARIYA K. K.; UMPIERREZ G. E. Guideline for management of diabetic ketoacidosis: time to revise? *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, v. 5, n. 5, p. 321-323, 2017.



EDWARDS S. L. Pathophysiology of acid base balance: the theory practice relationship. *Intensive Critical Care Nursing*, v. 2, n. 1, p. 28-38, 2008.

FERREIRA P. P.; *et al.* Cetoacidose diabetic- aspectos atuais de abordagem e tratamento. *Medicina Interna*, v.5, n.3, p.175-184, 1998.

FLECKMAN A. M. Diabetic ketoacidosis. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, v. 22, n. 2, p. 181-207, 1993.

FREITAS M. C. F.; FOSS M. C. Cetoacidose diabética e estado hiperglicêmico hiperosmolar. *Medicina*. v. 36, n.2/4, p.389-393, 2003.

GLASER N. S.; *et al.* Mechanism of cerebral edema in children with diabetic ketoacidosis. *The Journal of Pediatrics*, v. 145, n. 2, p. 164-171, 2004.

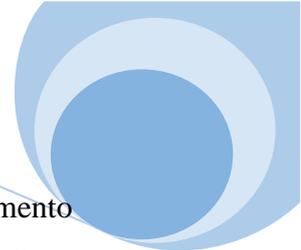
GRECO-SOARES J. P.; DELL'AGLIO D. D. Adesão ao tratamento em adolescentes com diabetes *mellitus* tipo 1. *Psicologia, Saúde & Doenças*, v. 18, n. 2, p. 322-334, 2017.

GREENBER R. N.; *et al.* Zigomycosis (mucormycosis): emerging clinical importance and new treatments. *Current Opinion in Infectious Diseases*, v. 17, n. 6, p. 517-525, 2004.

GREGG E. W.; SATTAR N.; ALI M. K. The changing face of diabetes complications. *Lancet Diabetes Endocrinology*, v. 4, n. 6, p. 53-47, 2016.

GRILLO M. F. F.; *et al.* Efeito de diferentes modalidades de educação para o autocuidado a pacientes com diabetes. *Revista Associação Médica Brasileira*, v. 59, n. 4, p. 400-405, 2013.

GROSS J. L.; *et al.*; Diabetes Mellito: Diagnóstico, classificação e avaliação do controle glicêmico. *Arquivo Brasileiro Endocrinologia Metabólica*, v. 46, n. 1, p. 16-26, 2002.



HAMMERSCHIDT K. S. A. Tecnologia educacional inovadora para o empoderamento junto a idosos com Diabetes *Mellitus* . Texto & Contexto-Enfermagem, v. 19 n. 2, p. 358-365, 2010.

INSEL R. A.; *et al.* staging presymptomatic type 1 diabetes: a scientific statement of JDRF, the endocrine society, and the American Diabetes Association. Diabetes Care, v. 38, n. 10, p. 1964-1974, 2015.

ATLAS IDF Diabetes. International diabetes federation, Brussels, 2015.

ISRAEL R. S. Diabetic ketoacidosis. Emergency Medicine Clinics of North American, v. 7, p. 859-871, 1989.

KATZUNG B. G. Farmacologia-Básica & Clínica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, ed. 9, p. 159, 2005.

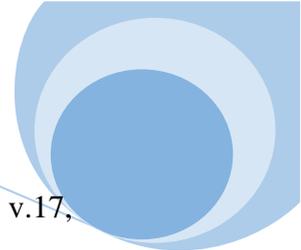
KEMPPAINEN K. M.; *et al.* Early childhood gut microbiomes show strong geographic differences among subjects at high risk for type 1 diabetes. Diabetes Care, v. 38, n. 2, p. 329-332, 2015.

KITABCHI A. E.; *et al.* Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes: a consensus statement from the American Diabetes Association. Diabetes Care, v. 29, n. 12, p. 2739-2748, 2006.

KITABCHI A. E.; *et al.* Hyperglycemic crises in diabetes. Diabetes Care, v. 27, p. 94-102, 2004.

KITABCHI A. E.; *et al.* Management of hyperglycemic crises in patients with diabetes. Diabetes Care, v. 24, n. 1, p. 131-53, 2001.

KITABCHI A. E.; *et al.*, Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes. Diabetes Care, v. 32, n. 7, p. 1335-1343, 2009.



KOROLKOVAS A.; FRANÇA F. F. A. C. Dicionário Terapêutico Guanabara, v.17, 2010.

KOUL P. B. Diabetic Ketoacidosis and management. *Pediatric Clinics*, v.48, n.2, p.134 - 144, 2009.

MALERBI D.; FRANCO L. Multicenter study of the prevalence os diabetes *mellitus* and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged. *Diabetes Care*, v. 30, n. 69, p. 1509-1516, 1992.

MERLTA S. N.; WOLFSDORF J. I. Contemporary management of patients with types 1 diabetes. *Endocrinology & Metabolism Clinics of North American*, v. 39, n. 3, p. 573-593, 2010.

NEWTON C. A.; RASKIN P. Diabetic ketoacidosis in type 1 and type 2 diabetes *mellitus* : a clinical and biochemical diferences. *Archives Internal Medicine*, v. 164, n. 17, p. 1925-1931, 2004.

NOYES K. S.; *et al.* Hydroxybutyrate near patient testing to evaluate a new end point for diabetic ketoacidosis in children. *Pedriatric Diabetes*, v. 18, n. 3, p. 150-156, 2007.

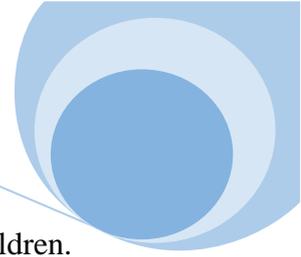
PEREL P.; ROBERTS I. Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill patients. *Cochrane Databases Systematic Reviews*. v.3, 2007.

PETERMAN X. B.; *et al.*Epidemiologia e cuidado a Diabetes *Mellitus* praticado na atenção primária á saúde: uma revisão narrativa. *Saúde (Santa Maria)*, v. 41, n. 1, p. 49-56, 2015.

PIRES A. C.; LAGUNA-NETO D. Crises hiperglicêmicas agudas no diabetes *mellitus*: aspectos atuais. *Revista Brasileira Clínica Médica*, v. 8, n. 3, p. 246-253, 2010.

OLIVEIRA J. E. P.; VENCIO Sérgio. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018. Editora Clannad, p. 91, 2017.

RANG H. P.; *et.al.* Farmacologia. Editora Elsevier, v.7, 2011.



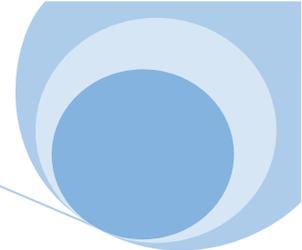
ROSENBLOOM A. L. Hyperglycemic crises and their complications in children. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, v. 20, n. 1, p. 5-18, 2007.

ROSENBLOOM A. L. Cerebral edema in diabetic ketoacidosis and other acute devastating complications: recent observations. *Pediatric Diabetes*, v. 6, n. 1, p. 41-49, 2005.

SKYLER J. S.; *et al.* Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, and prognosis. *Diabetes*, v. 66, n. 2, p. 241-255, 2017.

TUOMILEHTO J. Prevention of type 2 diabetes *mellitus* by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *Journal Medical*. v.344, p.1343-1350, 2001.

WESTERBERG D. P. Diabetic ketoacidosis: evaluation and treatment. *American family physician*, v. 87, n. 5, p. 337-346, 2013.



Capítulo 3

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA FENILCETONÚRIA NAS REGIÕES NORTE E NORDESTE DO BRASIL

Fernanda da S Platner¹, Julia PF Pepes¹, Bruno dos S Crescencio¹, Bruna MR Galante², Rogério RV Boas³, Fernanda de AG Daros³

¹Acadêmico de Biomedicina, Faculdades Pequeno Príncipe, Curitiba/PR.

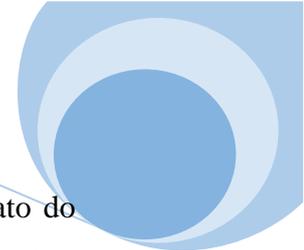
²Acadêmica de Farmácia, Faculdades Pequeno Príncipe, Curitiba/PR.

³Docente, Faculdades Pequeno Príncipe, Curitiba/PR.

1. INTRODUÇÃO

As hiperfenilalaninemias são distúrbios metabólicos caracterizados pela elevação dos níveis plasmáticos de fenilalanina (FAL). Dentre as suas diferentes classes, encontra-se a fenilcetonúria (PKU – *phenylketonuria*), um erro inato do metabolismo de aminoácidos de herança autossômica recessiva, onde os indivíduos afetados apresentam uma deficiência total ou parcial da enzima hepática fenilalanina hidroxilase (PAH - *phenylalanine hydroxylase*), responsável pela catálise da conversão irreversível da FAL em tirosina (FORD *et al.*, 2018; STRISCIUGLIO & CONCOLINO, 2014).

O déficit da PAH resulta na elevação dos níveis séricos de FAL, além de provocar a abertura de uma via metabólica alternativa com superprodução de metabólitos, como o ácido fenilpirúvico. Fato é que o excesso de FAL e os metabólitos produzidos são tóxicos ao sistema nervoso central, pois inibem vias metabólicas de lipídeos, síntese de proteínas, a atividade de determinadas enzimas, além de afetar a transmissão sináptica e o processo de mielinização, prejudicando o desenvolvimento neurológico (BROWN & LICHTER-KONECKI, 2016; JAHJA *et al.*, 2014; LIN *et al.*, 2018).



Diante da significativa implicação clínica, a PKU foi o primeiro erro inato do metabolismo a dispor de programas eficazes para a triagem e tratamento de recém-nascidos, dentre eles, o Programa Nacional de Triagem Neonatal (BERNAL & EIROA, 2017; BRASIL, 2016; TREVISAN *et al.*, 2015).

No entanto, somente em 2001, após uma iniciativa do Ministério da Saúde, o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) foi implementado e regulamentado por meio da Portaria GM/MS nº822 de 06 de junho de 2001, prevendo, dentre outros fins, efetivar o PNTN nos estados brasileiros; uniformizar o atendimento e ampliar o acesso à triagem neonatal no país, de forma a cobrir 100% dos recém-nascidos vivos (BRASIL, 2012; FREITAS *et al.*, 2015; NUPAD, 2013). A partir de então, toda criança nascida em território nacional tem direito à triagem neonatal, sobretudo ao teste do pezinho, ofertado pelo Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2013).

Contudo, apesar da implementação do PNTN, ainda há uma grande dificuldade para reunir as informações sobre o alcance e implementação do programa, bem como das ocorrências de fenilcetonúria no Brasil, uma vez que estes dados não são centralizados (BUENO *et al.*, 2016; ROSA, 2014).

2. EPIDEMIOLOGIA

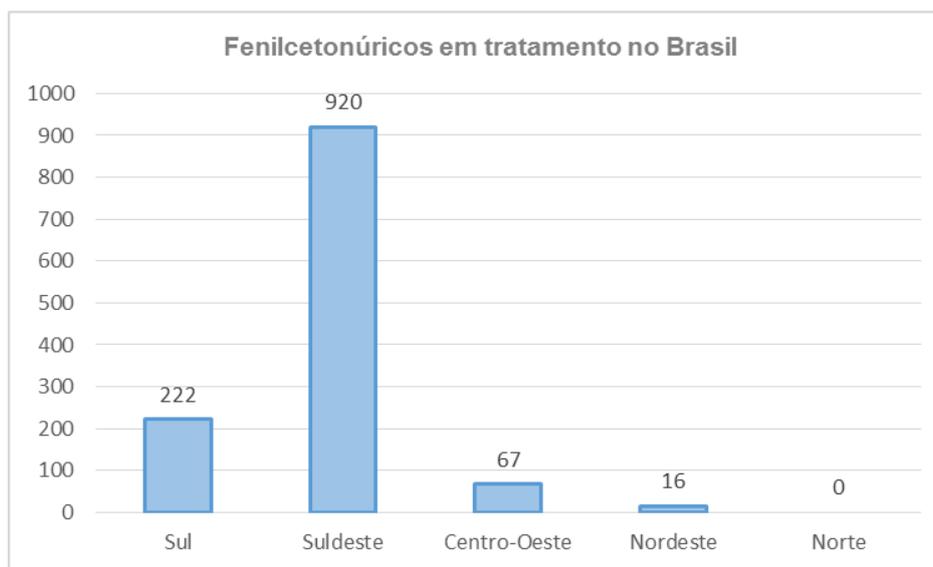
A PKU é uma doença rara cuja prevalência mundial estimada é de 1:10.000 nascimentos (SCRIVER, 2007). No Brasil, a prevalência da PKU foi mensurada por Carvalho e colaboradores (2007) no ano de 2005, a partir de uma amostra de 3 milhões de nascimentos. Os resultados indicaram uma prevalência de aproximadamente 1:25.000 nascimentos (CARVALHO *et al.*, 2007; CONITEC, 2019).

Entretanto, o conhecimento sobre o número atual de afetados pela doença tornou-se um grande desafio, uma vez que os dados sobre a prevalência de PKU nos estados brasileiros encontram-se descentralizados (FRANÇA *et al.*, 2016).

França *et al.*, (2016) desenvolveu em conjunto com o Ministério da Saúde e com os Centros de tratamento de portadores da PKU, um estudo relacionando os portadores de PKU em 11 dos 26 estados brasileiros, sendo muitos dos estados que não apresentavam dados sobre o registro da doença estavam situados nas regiões norte e nordeste do Brasil (Gráfico 1). Nesta investigação foram incluídos portadores de PKU ainda crianças, diagnosticados na triagem neonatal ou tardiamente, que se encontravam

em tratamento nos centros de referência de cada estado, sem considerar a naturalidade dos indivíduos, uma vez que, muitos deles se deslocam para outros estados buscando assistência (FRANÇA *et al.*, 2016).

Gráfico 1. Fenilcetonúricos em tratamento no Brasil.



Fonte: Adaptado de FRANÇA *et al.*, 2016.

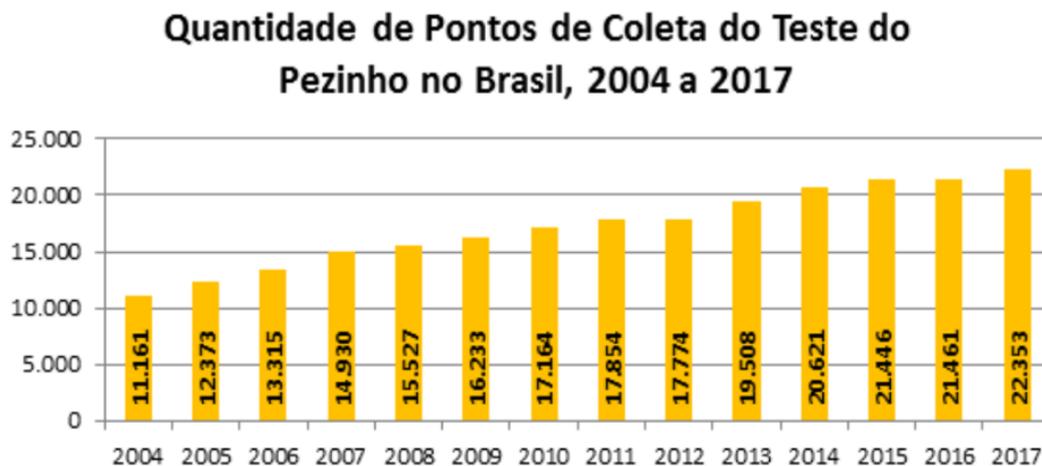
Um fato que pode estar associado a falta de informações é a quantidade de locais cadastrados para realizar a coleta e encaminhamento do sangue dos recém-nascidos para laboratórios especializados nos estados Brasileiros. De acordo com o Programa Nacional de Triagem Neonatal (2018), a análise da quantidade de pontos de coleta do teste do pezinho, entre 2004 e 2017 (Gráfico 2), demonstrou a ausência de dados para o cálculo no ano de 2004 para os estados do Amapá, Roraima e Piauí e no ano de 2015 e 2017 para o estado do Amapá.

A amplitude do território e a dificuldade de incorporar a rede de assistência à saúde são aspectos que podem estar relacionados a essa ausência de dados, principalmente nas regiões norte e nordeste do Brasil (BOA SORTE *et al.*, 2010).

Além disso, estudos realizados em dois estados da região nordeste, o primeiro na região de Campina Grande – PB, entre 2000 e 2001, com o objetivo de avaliar o programa para rastreamento de hipotireoidismo congênito e fenilcetonúria através do teste do pezinho por Ramos *et al.*, (2003) e o segundo com o objetivo de descrever e avaliar o perfil do Programa de Triagem Neonatal baiano em 2003 por Almeida (2006) abordaram questões associadas a baixa cobertura do programa durante o período

estudado, além de pontos associados a gestão das amostras, o tempo para a realização do exame, a situação socioeconômica envolvida, a desinformação da população sobre a importância do exame e a falta de registros na rede.

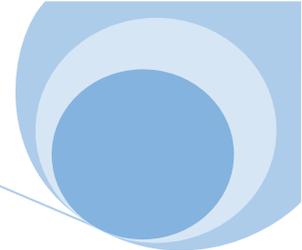
Gráfico 2. Pontos de coleta do Teste do Pezinho no Brasil (2004-2017).



Fonte: Programa Nacional de Triagem Neonatal – CGSH/DAET/SAS/MS, 2018.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Demonstra-se que há escassez de registros epidemiológicos da PKU, sobretudo nas regiões norte e nordeste. Considerada a gravidade da doença quando não tratada adequadamente e a regulamentação do PNTN que já completa 19 anos, a insuficiência de dados é um sério problema. Fatores como a amplitude do território, falhas de cobertura do programa, fatores socioeconômicos e desinformação revelam que ainda há muito que avançar no manejo da PKU nas regiões.



4. REFERÊNCIAS

ALMEIDA A. M.; *et al.* Avaliação do Programa de Triagem Neonatal na Bahia no ano de 2003. Revista Brasileira de Saude Materno Infantil, v. 6, n. 1, p. 85-91, 2006.

BERNAL A. C.; EIROA H. Fenilcetonuria de diagnóstico tardio. Salud(i)Ciencia, v. 22, n. 6, p. 518-524, 2017.

BOA SORTE T. R. S. A.; *et al.* Estudo das bases moleculares da fenilcetonúria no Nordeste do Brasil. Tese de Doutorado. Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz – PPG em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa. Salvador, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Informe técnico n. 49, de 11 de abril de 2012. Esclarecimentos sobre a fenilcetonúria. Diário Oficial da União, 2012.

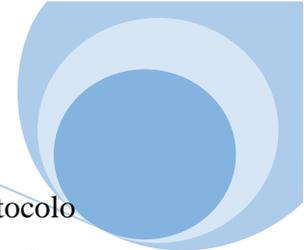
BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 822 de 06 de junho de 2001. Regras de financiamento e execução do Componente Especializado da Assistência Farmacêutica no âmbito do SUS. DOU, Brasília, 2013.

BRASIL. Triagem neonatal biológica: manual técnico. MS, SAS, DAET. Brasília, Ministério da Saúde, 2016.

BROWN C. S.; LICHTER-KONECKI U. Phenylketonuria (PKU): A problem solved? Molecular Genetics and Metabolism Reports, v. 6, p. 8-12, 2016.

BUENO C. F.; *et al.* Diagnóstico da fenilcetonúria materna e assessoramento nutricional durante a gestação: Revisão de literatura. Revista Eletrônica Biotecnologia e Saúde, v. 7, n. 16, p. 59-66, 2016.

CARVALHO T. M.; *et al.* Newborn screening: a national public health programme in Brazil. Journal of Inherited Metabolic Disease, v. 30, n.4, p. 615, 2007.



CONITEC – Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas fenilcetonúria. Relatório de recomendação. MS - SCTIE, n. 16, 2019.

FORD S.; *et al.* Living with Phenylketonuria: Lessons from the PKU community. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, v. 17, p. 57-63, 2018.

FRANÇA A. A. P.; *et al.* Defeitos congênitos por fatores genéticos. *Revista Científica Fagoc Saúde*, v. 1, p. 41-53, 2016.

FREITAS B. N. M.; *et al.* A Importância do Teste do Pezinho. *Revista Saberes, Rolim de Moura*, v. 3, n. Esp., p. 2-13, 2015.

JAHJA R.; *et al.* Neurocognitive evidence for revision of treatment targets and guidelines for phenylketonuria. *The Journal of pediatrics*, v. 164, n. 4, p. 895-899, 2014.

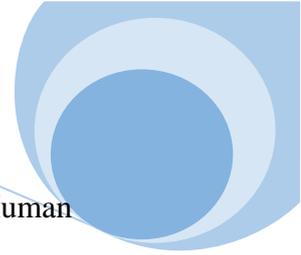
LIN C.; *et al.* Transcription factor-based biosensor for detection of phenylalanine and tyrosine in urine for diagnosis of phenylketonuria. *Analytica Chimica Acta*, v. 1041, p. 108-113, 2018.

NUPAD - Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico. Diagnóstico Situacional do Programa Nacional de Triagem Neonatal nos estados brasileiros. Relatório técnico. MS/SAS/FM-UFMG. Belo Horizonte, 2013.

PROGRAMA NACIONAL DE TRIAGEM NEONATAL – CGSH/DAET/SAS/MS. Indicadores da Triagem Neonatal no Brasil. Ministério da Saúde. Brasil, 2018.

RAMOS A. J. S.; *et al.* Avaliação do programa de rastreamento de doenças congênitas em Campina Grande-PB, Brasil. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, v. 47, n. 3, p. 280-284, 2003.

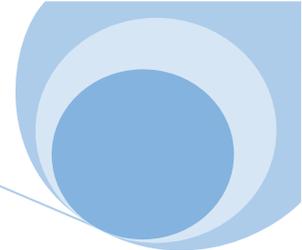
ROSA R. R. P. A. Fenilcetonúria: uma revisão de literatura. *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. 11, n. 4, p. 27-47, 2014.



SCRIVER C. R. The PAH gene, phenylketonuria, and a paradigm shift. *Human Mutation*, v. 28 n.9, p. 831–845, 2007.

STRISCIUGLIO P.; CONCOLINO D. New strategies for the treatment of phenylketonuria (PKU). *Metabolites*, v. 4, n. 4, p. 1007-1017, 2014.

TREVISAN L. M.; *et al.* Access to treatment for phenylketonuria by judicial means in Rio Grande do Sul, Brazil. *Ciencia & Saude Coletiva*, v. 20, n. 5, p. 1607-1616, 2015.



Capítulo 4

A INFLUÊNCIA GENÉTICA EM USUÁRIOS DEPENDENTES DE CRACK: UMA REVISÃO DA LITERATURA

Luma Santos¹, Cristiano ST Filho¹, Camilla Lazzaretti²

¹Discente do curso de Biomedicina do UNICNEC/RS.

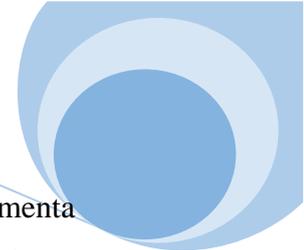
²Professora do curso de Biomedicina do UNICNEC/RS.

1. INTRODUÇÃO

A dependência química é uma questão de saúde pública que prejudica aspectos da vida dos usuários bem como dos familiares próximos. Sabe-se que o abuso de substâncias dispõe de uma etiologia multifatorial, que envolve as seguintes causas: (i) ambientais, como situações psicológicas relacionadas com problemas familiares e traumas; e (ii) genéticas, como possíveis polimorfismos e alterações em genes relacionados a síntese e depleção de neurotransmissores cerebrais (COMPTON *et al.*, 2005; STOLF *et al.*, 2014).

Uma das drogas de maior potencial de abuso é o crack (CK). Desta forma, o CK é um composto químico produzido a partir da pasta de cocaína adicionada ao bicarbonato de sódio. Sua forma cristalizada contém de 40 a 80% de cocaína livre, tornando-o um composto com grande ação farmacodinâmica e cinética no organismo. A partir disso, o CK é utilizado por meio do fumo da pedra formada da substância por meio de cachimbos ou latas. E com isso, sua inalação leva de 6 a 8 segundos para afetar a atividade cerebral e sua duração é de 5 a 10 minutos, o que corrobora com a meia vida da substância (COMPTON *et al.*, 2005; STOLF *et al.*, 2017; STOLF *et al.*, 2014).

O CK é um composto insolúvel em água, mas solúvel em lipídeos e solventes orgânicos, e ultrapassa a barreira hematoencefálica apresentando ações pré-sinápticas. Seu mecanismo de ação farmacológico é devido ao bloqueio dos transportadores de dopamina, o que resulta na maior concentração deste neurotransmissor na fenda sináptica, pela inibição da sua reciclagem neuronal. Outra ação do CK pode alterar a



função sináptica realizada pela serotonina. A partir disso, a dopamina aumenta sistemicamente, e sua ação central é principalmente relacionada a via mesolímbica. Estas projeções neuronais da via estão associadas com o núcleo accumbens, uma estrutura encefálica que atua nas vias de recompensa e busca de prazer. A partir destes dados, ocorrem recidivas de uso vinculadas a busca sistemática, para o alívio de sintomas de abstinência (CARLOS, 2013; LEHRMANN *et al.*, 2003).

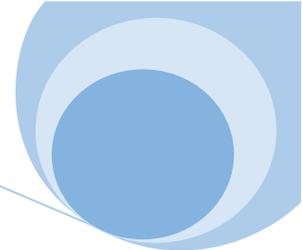
O comportamento dos dependentes químicos é intuitivamente relacionado ao consumo da droga, deste modo suas necessidades humanas como sono, alimentação, afeto, senso de responsabilidade e sobrevivência tornam-se diminuídos. Tais comportamentos elevam a problemática das políticas públicas, visto que as drogas de abuso têm alto poder de dependência e criminalização na sociedade. O índice de usuários de CK na população brasileira é de 0,7%, e estima-se que 50% do risco para o abuso da droga possa estar atribuído a influência hereditária familiar de genes envolvidos na função de neurotransmissão sináptica (CARLOS, 2013; STOLF *et al.*, 2014).

A herança genética familiar para o abuso drogas pode estar relacionada a ação dos genes de receptores de neurotransmissores, como a dopamina, extensamente já citada por estar envolvida na atividade do núcleo *accumbens* e ação no sistema de recompensa. Outro potencial foco de estudo são os genes para receptores de serotonina, neurotransmissor associado ao sistema límbico ao humor e controle inibitório de ações (AGRAWAL, PRESCOTT & KENDLER, 2004; CARLOS, 2013; LACOSTE *et al.*, 2019).

A utilização de CK preocupa a sociedade, visto que é uma substância com alto potencial de vício quando comparado a outras drogas como a maconha e cocaína. O estudo de fatores genéticos para a herança ao abuso de drogas esclarece possíveis aspectos relacionados a este problema de saúde pública, e pode aprimorar a terapêutica farmacológica individual de tratamento dos dependentes químicos.

2. OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a possível ação hereditária na indução da dependência de crack.



3. METODOLOGIA

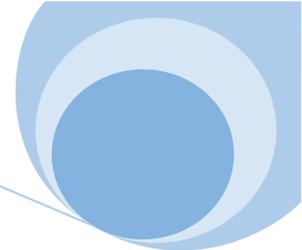
Este estudo é uma revisão narrativa da literatura onde foram pesquisados artigos do dia 19 de maio de 2019 até 30 de maio de 2019. A plataforma de dados utilizada foi a biblioteca virtual “*PubMed*”, cujos descritores utilizados foram: “*crack*” e “*genetic*”, padronizados pelos Descritores em Ciências da Saúde (DeCs). Foram incluídos apenas pesquisas com no máximo 5 anos de publicação. Os resultados obtidos mostraram 108 publicações. Os Destes, apenas 7 artigos foram incluídos, sendo relacionados a estudos clínicos sobre o tema.

4. RESULTADOS

Os estudos analisados apontam que existem fatores hereditários envolvidos na dependência de crack. Foram encontrados na literatura estudos apresentando alguns genes para enzimas e demais proteínas cuja atuação são localizadas em regiões do sistema de recompensa do sistema nervoso central (SNC). Desta forma, estudos de caso com a observação de irmãos monozigóticos ou dizigóticos apontaram uma vasta associação com o abuso de drogas. Os estudos com dados epidemiológicos também mostraram importantes para o esclarecimento dos danos causados a população.

Em quatro artigos selecionados foram evidenciados estudos de irmãos gêmeos na avaliação de genes importantes, como segue: (i) o gene receptor de Serotonina (HTR2B); (ii) e o gene que codifica a enzima butirilcolinesterase (BChE). Estes genes foram descritos por sofrerem mutações e diminuir sua expressão, gerando uma inativação de funções. Outro gene verificado neste estudo foi o da proteína transportadora de dopamina (DAT1), que quando submetido a um polimorfismo de repetição em tandem de número variável (VNTR) agrega uma forte ligação a fenótipos de abuso de drogas.

Apenas um artigo contempla o estudo do genótipo “AA”, onde os indivíduos fazem o uso da droga fumada. Entretanto sabe-se que o ambiente pode modular a expressão de variáveis genéticas, principalmente no que tange a dependência química.



5. DISCUSSÃO

A dependência química tratada como um modelo poligênico complexo entende-se que vários genes devem atuar no processo de dependência, os genes citados na literatura são: (i) Gene HTR2B, (ii) Gene BChE, (iii) Gene DAT1.

O gene HTR2B relacionado a impulsividade é responsável pela codificação do receptor de serotonina, ocorrendo uma mutação nesse gene como consequência há uma diminuição da atividade no organismo humano. A serotonina é um neurotransmissor produzido pelos neurônios serotoninérgicos, atuando na formação de impulsos nervosos que podem estimular ou inibir alguma função do organismo. Conhecida como hormônio do bem-estar, atua principalmente no cérebro regulando o sono, apetite, humor, a sensibilidade entre outras funções. O aumento de serotonina no organismo humano devido a diminuição de sua recaptção causa a síndrome da serotonina, apresentando os sintomas mais clássicos da dependência química: (i) insônia, (ii) falta de apetite, (iii) agitação entre outros (LACOSTE *et al.*, 2019).

O estudo do gene BChE que codifica a enzima butirilcolinesterase apresenta fatores farmacogenéticos, visto que a diminuição da atividade enzimática aumenta a quantidade de cocaína que atinge as regiões do cérebro, aumentando consequentemente a propensão de dependência. Esta enzima catalisa a reação de biotransformação da cocaína em dois metabólitos. Produzida principalmente no fígado, a BChE está distribuída na substância branca do SNC. Existem aproximadamente 65 mutações do gene BChE, em grande maioria são produzidas enzima ineficientes e com baixos níveis de atividade catalítica (LEHRMANN *et al.*, 2003).

A proteína transportadora de dopamina (DAT) é inibida através da ação da cocaína, modificando a neurotransmissão e por consequência a função cerebral. Sendo a principal proteína que regula a dopamina, a DAT também consegue modular a intensidade de duração das sinalizações dopaminérgicas (STOLF *et al.*, 2017).

A utilização de cocaína evidenciou um aumento da dopamina na fenda sináptica em virtude do efeito inibidor da DAT nos terminais dos neurônios dopaminérgicos, por consequência há um aumento nos comportamentos de procura ao uso de drogas. Em um estudo com população de amostras contendo dependentes de crack, foi evidenciado um polimorfismo de número variável de repetições em tandem (VNTR) no gene DAT1.



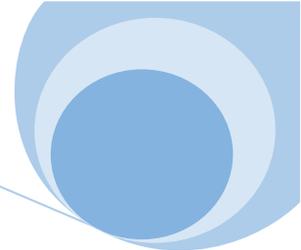
Ainda não há uma funcionalidade definida para este polimorfismo e há grande relação em diferentes distúrbios de drogas (STOLF *et al.*, 2017).

Segundo estudo realizado por Agrawal e colegas em 2004, utilizando o modelo clássico de pesquisa com gêmeos possibilitando três resultados variantes: (i) fatores genéticos, (ii) Fatores Ambientais e (iii) Fatores Ambientais individuais. A influência genética do uso de cocaína e crack por jovens apresentou 74% de covariância e o restante dividido em fator ambiental e fator ambiental único. A pesquisa tinha o objetivo de diferenciar o nível de influência entre a *Cannabis sativa* e a cocaína em seus diversos modos de preparo, porém, apresentou números alarmantes com relação aos resultados com a cocaína e o crack (AGRAWAL, PRESCOTT & KENDLER, 2004).

O genótipo AA, onde os indivíduos fazem o uso da droga fumada, alcançando o máximo efeito e há presença do polimorfismo de nucleotídeo simples (SNP) no gene BChE.

6. CONCLUSÃO

Observou-se que existem estudos que relacionam a influência genética com a dependência química. Desta forma, esta associação é presente nos indivíduos. Contudo, sabe-se que os fatores ambientais também podem modular ativamente o abuso de substâncias, como o CK e cocaína. Com isso, sugere-se que o uso de drogas possui uma potencial inter-relação entre genética e fatores ambientais.



7. REFERÊNCIAS

AGRAWAL A.; PRESCOTT C. A.; KENDLER K. S. Forms of Cannabis and Cocaine: A Twin Study. *American Journal of Medical Genetics Part B (Neuropsychiatric Genetics)*, v. 129, n. 1, p. 125–128, 2004.

CARLOS I. Genetic variants associated with addictive behavior in Colombian addicted and non-addicted to heroin or cocaine. *Colombia Médica*, v. 44, n. 1, p. 19-25, 2013.

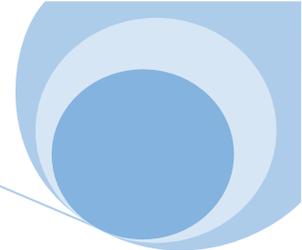
COMPTON W. M.; *et al.* Developments in the epidemiology of drug use and drug use disorders. *American Journal of Psychiatry*, v. 162, n. 8, p. 1494-1502, 2005.

LACOSTE J.; *et al.* A positive association between a polymorphism in the HTR2B gene and cocaine-crack in a French Afro-Caribbean population. *The World Journal of Biological Psychiatry*, p. 1-6, 2019. DOI: 10.1080/15622975.2018.1563721

LEHRMANN E.; *et al.* Transcriptional profiling in the human prefrontal cortex: evidence for two activational states associated with cocaine abuse. *The Pharmacogenomics Journal*, v. 3, n. 1, p. 27-40, 2003.

STOLF A. R.; *et al.* Association between the Intron 8 VNTR polymorphism of the DAT1 gene and crack cocaine addiction. *Neuropsychobiology*, v. 75, n. 3, p. 141-144, 2017. DOI: 10.1159/000485128

STOLF A. R.; *et al.* Crack Cocaine Users Show Differences in Genotype Frequencies of the 3' UTR Variable Number of Tandem Repeats of the Dopamine Transporter Gene (DAT1/SLC6A3). *Neuropsychobiology*, v. 70, n. 1, p. 44-51, 2014.



Capítulo 5

ANÁLISE METABOLÔMICA POR RMN DE MACRÓFAGOS MURINOS DA LINHAGEM *RAW-BLUE* ESTIMULADOS POR LPS

Gabriele LN Alves¹, Guilherme L Sasaki²

¹Mestra em Ciências (Bioquímica), Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR.

²Doutor em Ciências (Bioquímica), Professor Associado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR.

1. INTRODUÇÃO

A inflamação é uma resposta do sistema imunológico a infecções e lesões que, quando persistente, pode resultar em doenças, como a aterosclerose e a artrite reumatoide (KAPOOR *et al.*, 2012). Durante o processo inflamatório, alterações metabólicas em células do sistema imunológico, como macrófagos, influenciam todo o desfecho da resposta imunológica e da homeostase do organismo (KABAT & PEARCE, 2017). Uma análise metabólica detalhada pode revelar alvos terapêuticos para o tratamento de processos inflamatórios crônicos (LIU *et al.*, 2017).

O objetivo do estudo foi realizar uma análise metabolômica inédita por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) da linhagem celular de macrófagos murinos *RAW-Blue* estimulada para a resposta inflamatória por lipopolissacarídeo (LPS) bacteriano *in vitro*, em comparação a um grupo controle, não tratado, a fim de identificar biomarcadores inflamatórios celulares e/ou secretados e contribuir para estudos posteriores na área do imunometabolismo celular.

2. METODOLOGIA

Em três experimentos independentes, a resposta inflamatória dos macrófagos da linhagem *RAW-Blue* (dois frascos de cultivo de 75 cm²) foi induzida por 100 ng/mL de LPS no meio de cultivo celular por 24 horas e confirmada por ensaios com reagente de



Griess e QUANTI-Blue. Foram analisadas as frações hidrofílicas e hidrofóbicas das células, além do sobrenadante e do meio de cultivo celular DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*), por meio das técnicas de RMN de prótons (RMN de ^1H) e *heteronuclear single quantum coherence* - HSQC ^1H - ^{13}C editado, em um equipamento Bruker AVANCE III 600 MHz ASCEND com uma sonda TXI. Os sinais foram comparados aos dados disponíveis na literatura científica, principalmente o estudo de SANTANA-FILHO *et al.*, (2017), para identificação dos compostos, utilizando-se como padrão interno o TMS (trimetilsililpropionato de sódio 2,2,3,3-d₄).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No total, foram identificados 60 metabólitos nas frações celulares hidrofílicas, 50 sinais nas frações celulares hidrofóbicas e 42 metabólitos no sobrenadante do cultivo celular. No meio de cultivo celular DMEM foram identificados 35 compostos.

Na fração celular hidrofílica foi observada uma concentração significativamente maior do biomarcador pró-inflamatório itaconato (número 24, na Figura 1), com sinais em δ 5.377 ppm e δ 5.855 ppm, no grupo sob estímulo por LPS.

Não foi possível identificar diferenças significativas entre os grupos nas frações celulares hidrofóbicas e no sobrenadante. A comparação entre os compostos presentes no meio de cultivo celular e o sobrenadante foi coerente com informações do fabricante do meio de cultivo e o metabolismo das células.

Os resultados estão de acordo com o que foi descrito em estudos metabolômicos semelhantes realizados com outras linhagens celulares de mamíferos. O itaconato, identificado anteriormente como biomarcador pró-inflamatório para as linhagens de macrófagos VM-M3 e RAW 264.7 (STRELKO *et al.*, 2011), é também um biomarcador intracelular de resposta inflamatória para a linhagem celular de macrófagos murinos *RAW-Bluein vitro* e pode ser detectado por técnicas de espectroscopia por RMN.

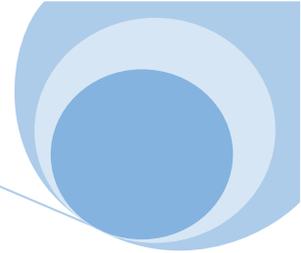
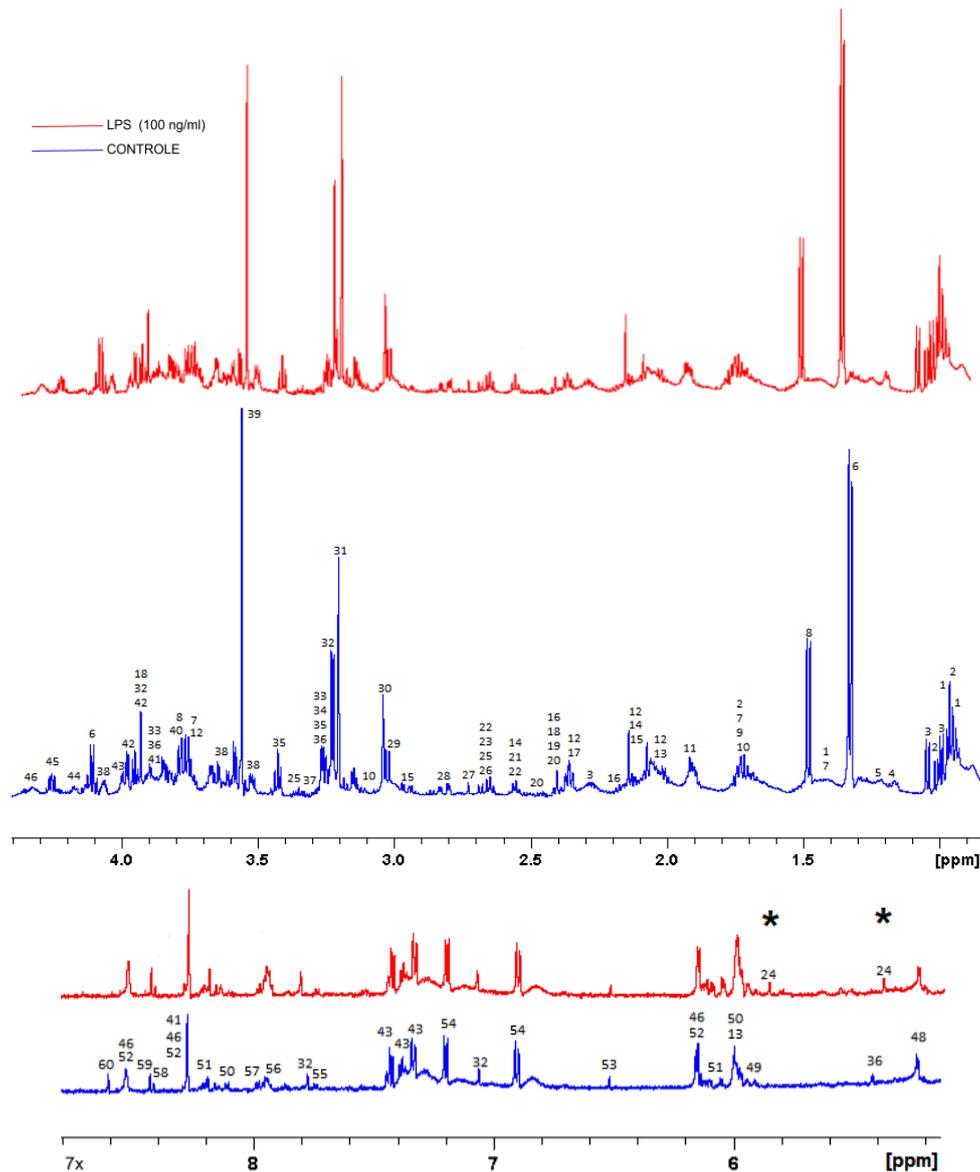
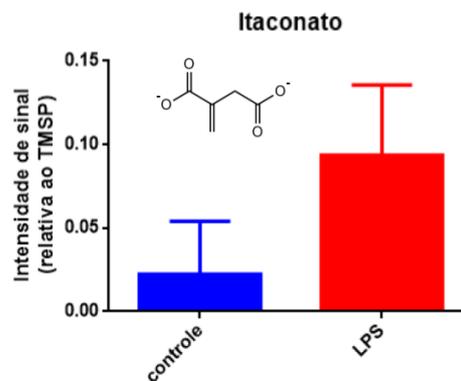
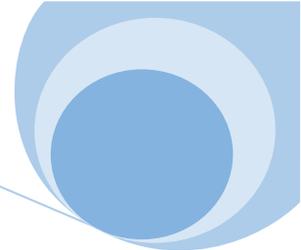


Figura 1. RMN de ¹H da fração hidrofílica do extrato de células RAW-Blue.



1:isoleucina, 2:leucina, 3:valina, 4:etanol, 5:β-hidroxibutirato, 6:lactato, 7:lisina, 8:alanina, 9:arginina, 10:ornitina, 11:acetato, 12:glutamato, 13:UDP-GlcNAc, 14:glutamina, 15:glutationa, 16:oxaloacetato, 17:prolina, 18:pantotenato, 19:succinato, 20:piruvato, 21:piroglutamato, 22:citrato, 23:metionina, 24:itaconato, 25:hipotaurina, 26:malato, 27:sarcosina, 28:aspartato, 29:α-cetoglutarato, 30:creatina, 31:colina, 32:histidina, 33:betaína, 34:TMAO, 35:taurina, 36:D-glucosamina, 37:metanol, 38:mio-inositol, 39:glicina, 40:glicerol, 41:metiladenina, 42:serina, 43:fenilalanina, 44:5-oxoprolina, 45:treonina, 46:ATP, 47:β-glucose (oculto), 48:α-glucose, 49:fosfoenolpiruvato, 50:UMP, 51:NAD⁺, 52:ADP, 53:fumarato, 54:tirosina, 55:triptofano, 56:UDP-glucose, 57:uridina, 58:NADP⁺, 59:formato, 60:AMP.





4. REFERÊNCIAS

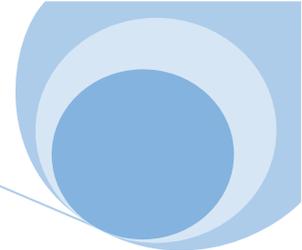
KABAT A. M.; PEARCE E. J. Inflammation by way of macrophage metabolism. *Science*, v. 356, n. 6337, p. 488-489, 2017.

KAPOOR S.; *et al.* Metabolomics in the analysis of inflammatory diseases. In: UTE ROESSNER. *Metabolomics*. Intech Open, cap. 11, p. 269-288, 2012.

LIU K.; *et al.* Metabolomics analysis to evaluate the anti-inflammatory effects of polyphenols: glabridin reversed metabolism change caused by LPS in RAW 264.7 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 65, n. 29, p. 6070-6079, 2017.

SANTANA-FILHO A. P. D.; *et al.* NMR metabolic fingerprints of murine melanocyte and melanoma cell lines: Application to biomarker discovery. *Scientific Reports*, v. 7, n. 42324, p. 1-9, 2017.

STRELKO C. L.; *et al.* Itaconic acid is a mammalian metabolite induced during macrophage activation. *Journal of the American Chemical Society*, v. 133, n. 41, p. 16386-16389, 2011.



Capítulo 6

AÇÕES EDUCATIVAS PARA PREVENÇÃO DO CÂNCER DE COLO UTERINO: UMA INTERVENÇÃO COMUNITÁRIA EM UM MUNICÍPIO DO LITORAL NORTE DO RIO GRANDE DO SUL

Juliana Andrade¹, Aline Francieli¹, Deonilda Fischer¹, Gabriela Kraemer¹, Camilla Lazzaletti², Fernanda Huff²

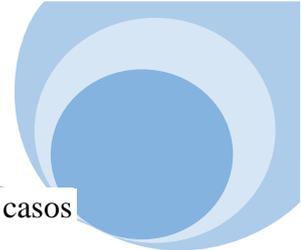
¹Discente do curso de Biomedicina do UNICNEC/RS.

²Professora do curso de Biomedicina do UNICNEC/RS.

1. INTRODUÇÃO

O conhecimento, por parte das mulheres, sobre o câncer de colo de útero e do exame preventivo, ainda é pequeno. A incidência desta neoplasia pelo mundo é uma das causas mais frequentes de óbito da população feminina. O câncer de colo de útero ou câncer cervical, é causado pela infecção persistente por alguns tipos do Papilomavírus Humano (HPV). Sendo um problema de saúde pública, estratégias de prevenção para essa neoplasia são essenciais (BRASIL, 2019).

O Papilomavírus (PV) foi descrito em 1933 como um possível agente etiológico causador das verrugas encontradas na genitália. Isso estimulou a comunidade científica na verificação da possível malignidade deste tipo de alteração na pele. Desta forma, pelo menos 13 tipos de HPV são considerados oncogênicos, especialmente os subtipos 16 e 18, responsáveis por cerca de 70% dos cânceres cervicais (FERNANDES *et al.*, 2012). Este tipo de infecção pode gerar lesões de alto risco no colo do útero, e por isso, a partir do aparecimento da neoplasia, o espalhamento do tumor pode ocorrer. Desta forma, esta situação gera os altos índices de mortalidade, como descrito no estudo do Instituto nacional do câncer (INCA), em 2017 ocorreram 6.385 óbitos devido ao câncer do colo uterino no país. Em 2018, foi registrado 16.370 casos novos no Brasil. Para 2020 a estimativa é de 16.590 novos casos, entretanto os casos de óbito estão diminuindo,



obtendo-se uma baixa nas taxas (4,64/100 mil) estando na sexta posição entre os casos de óbitos em mulheres (BRASIL, 2019; LETO *et al.*, 2011).

Para um diagnóstico fidedigno o exame preventivo do câncer do colo do útero, denominado Papanicolau, é a principal estratégia para detectar lesões precursoras da doença. Outro aspecto importante é a realização de ações estratégicas de prevenção do câncer de colo de útero na comunidade. Este tipo de atividade visa à divulgação de informações adequadas sobre os aspectos gerais da infecção pelo HPV, sua forma de transmissão e a prevenção por meio de preservativos (PANOBIANCO *et al.*, 2013). Com isso, os projetos sociais originados no meio acadêmico, têm como objetivo contribuir para agregar conhecimento e esclarecer possíveis dúvidas da comunidade. Isso facilita a interação entre a universidade e o público em geral, proporcionando um elo de disseminação de informações científicas e de interesse em saúde pública (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Este tipo de educação em saúde pode ser realizado em locais de alta circulação de pessoas, praças, escolas, centros de convivência e faculdades, por meio do trabalho de estudantes de graduação de cursos da saúde. O curso de biomedicina do Centro Universitário Cenecista de Osório (UNICNEC), no estado do Rio Grande do Sul, semestralmente realiza estas atividades, através de projetos integradores com supervisão de professores capacitados.

2. RELATO DE CASO

Este trabalho fez parte do projeto integrador 5, do curso de biomedicina do UNICNEC. O objetivo das ações foi estimular a população através de intervenções comunitárias de educação em saúde para a prevenção da infecção por HPV e conseqüentemente o câncer de colo de útero. Foram utilizados os seguintes materiais: (i) panfletos; e (ii) preservativos femininos e masculinos cedidos da secretaria municipal de saúde; (iii) cartazes feitos pelo grupo envolvido na atividade; (iv) revistas de circulação nacional; (v) materiais para a coleta para do exame, para observação do público em geral; (vi) lâminas de microscopia com células de colo de útero fixadas; e (vii) um microscópio óptico.

Os locais de realização das ações foram o próprio centro universitário, em uma socialização de projetos integradores, e X Mostra Integrada de Iniciação Científica, por

meio da exposição de um pôster. Outro ambiente para a ocorrência das intervenções foi em um evento tradicional da cidade, o “38º Rodeio Criolo Internacional de Osório”. O mês de maio de 2019 foi escolhido para as atividades.

3. RESULTADOS

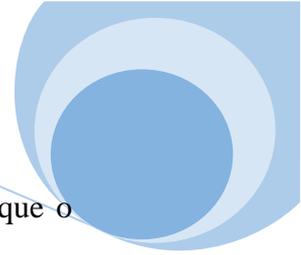
Os resultados obtidos mostraram que as intervenções feitas na comunidade (Figura 1) foram realizadas com êxito. Nota-se, que os diálogos perpetuados durante as ações geraram curiosidade na população, dentre os quais os assuntos mais perguntados foram: (i) exame citopatológico para triagem e diagnóstico precoce; (ii) as principais doenças sexualmente transmissíveis e suas formas de proteção e diagnóstico precoce; (iii) como são observadas as lesões em lâminas citológicas em microscópio óptico. Junto a isso, muitos folhetos educativos e preservativos foram bem aceitos pela população participante.

Figura 1.A) Intervenção ocorrida no centro de conveniência da UNICNEC onde alunos foram abordados com diálogos sobre o câncer do colo de útero; B) Intervenção ocorrida no “38º Rodeio Criolo Internacional de Osório”. Foram abordados assuntos sobre o câncer do colo do útero junto da visualização de lâminas citopatológicas em microscopia óptica.



Fonte: Imagens cedidas das alunas que realizaram as intervenções.

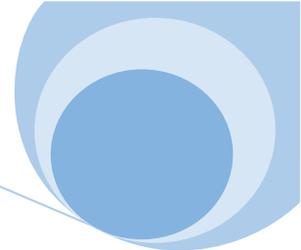
Os pontos positivos verificados no presente trabalho mostraram que a população feminina possui grande interesse sobre a prevenção, visto que foram realizados



inúmeros questionamento ao grupo. Contudo, os aspectos negativos apontaram que o público possui um pequeno conhecimento sobre o câncer de colo de útero. Da mesma forma, percebeu-se que alguns indivíduos negaram a entrega do preservativo, apontando o não uso do mesmo.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com isso, a partir deste trabalho notamos que o grupo alcançou sucesso no projeto, pois propôs uma reflexão nas mulheres sobre o hábito de realizar o exame preventivo, o uso do preservativo, e a leitura de materiais educativos. Junto disso, foi mostrado grande interesse pela população sobre o diagnóstico laboratorial. Assim, verificou-se que este projeto sensibilizou a comunidade participante.



5. REFERÊNCIAS

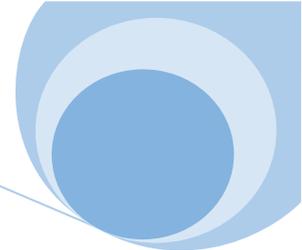
BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer 2018. Câncer de colo de útero. Disponível em: www.inca.gov.br. Acesso em: 7 de abril de 2019.

FERNANDES M. C.; *et al.* Universidade e a extensão universitária: a visão dos moradores das comunidades circunvizinhas. Educação em Revista, v. 28, n. 4, p. 169-194, 2012.

LETO M. Das G. P.; *et al.* Infecção pelo papilomavírus humano: etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 86, n. 2, p. 306-317, 2011.

OLIVEIRA M. M. *et al.* Cobertura de exame papanicolaou em mulheres de 25 a 64 anos, segundo a pesquisa nacional de saúde e o sistema de vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico, 2013. Revista Brasileira de Epidemiologia, v. 21, e180014, p. 1-11, 2018.

PANOBIANCO M. S.; *et al.* O conhecimento sobre o HPV entre adolescentes estudantes de graduação em enfermagem. Texto & Contexto Enfermagem, v. 22, n. 1, p. 201-207, 2013.



Capítulo 7

ÓLEO ESSENCIAL DE LARANJA: UM PROMISSOR FÁRMACO DE PROPRIEDADES ANSIOLÍTICAS

Maria Theresa SP da Silva¹, Camilla Lazzaretti²

¹Biomédica, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

²Biomédica, Professora do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Cenecista de Osório/RS.

1. INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais (OE) são derivados do metabolismo secundário das plantas e a extração pode ser realizada através de flores, brotos, caules, folhas, frutos, sementes e raízes. Porém, vários fatores podem influenciar na composição do OE e na concentração de cada princípio ativo, fatores esses como: temperatura, clima, nutrientes presentes no solo, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, poluição atmosférica, idade da planta, horário da coleta, órgão utilizado para a extração, o tipo de extração e a metodologia empregada, além dos possíveis patógenos que atingem as plantas (ANDRÉ *et al.*, 2018; ARAÚJO-FILHO *et al.*, 2018).

A composição dos OE deriva de dois grupos distintos de substâncias biossintéticas: (i) o grupo principal é composto pelos terpenos e terpenóides que são classificados de acordo com a junção de unidades de isopreno, sendo os principais grupos, os monoterpenos, que são responsáveis pela constituição de 90% dos OE; (ii) o segundo grupo são os sesquiterpenos que são os constituintes aromáticos e alifáticos (ANDRÉ *et al.*, 2018; PAVELA, 2015).

O óleo essencial de laranja (OEL) é um dos óleos mais extraídos no Brasil devido a produção de laranja que ocupa o 1º lugar no ranking mundial (FAOSTAT, 2020). O principal componente do OEL é o monoterpeno limoneno que por vezes corresponde até 95% da composição do óleo (SQUIRES *et al.*, 2010). Este constituinte



está associado à sua atividade ansiolítica indicando que quanto maior a concentração, maior o efeito (GOES *et al.*, 2012).

Alguns benefícios já foram comprovados com a utilização do OEL, como por exemplo, no auxílio à sobrevivência de populações de bactérias do gênero *Lactobacillus* na microbiota intestinal em ratos (WANG *et al.*, 2019). Junto disso, verifica-se no sistema respiratório uma ação antitussígena e de alívio de sintomas da asma (VIEIRA *et al.*, 2018). Da mesma forma, possui atividade antifúngica capaz de inibir o crescimento de *Aspergillus flavus* (VELÁZQUEZ-NUÑEZ *et al.*, 2013). Na oncologia nota-se uma indução de apoptose em células tumorais do cólon (CHIDAMBARA *et al.*, 2012). Sabe-se também que este óleo atua no sistema nervoso central (SNC), como na melhora de distúrbios do sono em idosos com demência (TAKEDA *et al.*, 2017). Outro ponto importante é a melhora da ansiedade (LEHRNER *et al.*, 2000).

A ansiedade é um sintoma psiquiátrico comum caracterizada por sentimentos perturbadores de incerteza e medo (COHEN *et al.*, 2016). Em casos extremos pode levar a insônia, dificuldade de concentração, indigestão, dormência, nervosismo ou sintomas somáticos como: palpitações e tensão muscular, afetando a qualidade de vida do indivíduo. Atualmente, existem medicações com eficácia clínica que apresentam efeitos adversos ou demonstram baixa aceitabilidade, levando a não adesão ao tratamento (GOES *et al.*, 2012; HOCAYEN *et al.*, 2019). Portanto, estão sendo estudadas alternativas estratégicas para substituição desses fármacos comerciais.

Uma dessas alternativas é o OEL que foi recentemente testado em roedores por Hocayen e colaboradores (2019). Neste trabalho o OEL atuou na neurotransmissão mediada pelo óxido nítrico, amenizando o comportamento do tipo ansioso (HOCAYEN *et al.*, 2019; WOLFFENBÜTTEL *et al.*, 2018). Além disso, há o conceito de que óleos essenciais podem produzir resultados positivos com efeitos farmacológicos e fisiológicos pela sensação de conforto que determinado aroma é capaz de promover (GOES *et al.*, 2012; JAAFARZADEH *et al.*, 2013). Por exemplo, a atividade do sistema nervoso parassimpático é aumentada em 12% enquanto a atividade do sistema simpático reduz em 16% com a utilização do OEL (DOBETSBERGER & BUCHBAUER, 2010). Na inalação de óleos perfumados, moléculas voláteis do óleo atingem os pulmões e rapidamente se difundem no sangue, causando ativação cerebral por circulação sistêmica. Essas moléculas também se ligam a receptores olfativos criando resposta eletrofisiológica que atinge o cérebro. A ativação do neocórtex ocorre por essa resposta,



tendo efeito na percepção de odores e capaz de atingir o sistema límbico, responsável pelas emoções (JAAFARZADEH *et al.*, 2013).

O objetivo do presente estudo é demonstrar os efeitos do OEL em possíveis situações de estresse que possam acarretar o aparecimento da ansiedade.

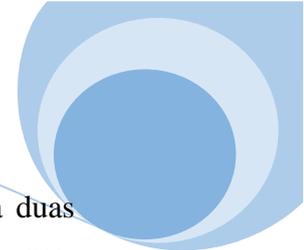
2. METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão da literatura de artigos por meio da plataforma *Pubmed* através dos descritores “*Orange essential oil*” AND “*anxiety*”. Totalizou-se 5 estudos que entraram no escopo deste trabalho. De acordo com os critérios de inclusão, os artigos deveriam ser a partir de 2010 e realizado em humanos, e como critério de exclusão, foram excluídos os artigos não utilizavam óleo essencial de laranja, permanecendo apenas 3 artigos para leitura completa.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes *in vitro* que apresentam resultados satisfatórios passam para etapa de testes de toxicidade realizada com roedores e na espécie alvo do estudo para confirmação de segurança dos compostos bioativos. Ainda não existe um protocolo definido específico para estabelecer uma dose segura a ser utilizada na espécie alvo, mas atualmente é utilizada como base a dose letal para 10% (DL₁₀) dos roedores obtida em testes de toxicidade aguda, ou a realização de um teste piloto na espécie alvo do estudo baseado em doses já testadas anteriormente por outros pesquisadores (ANDRÉ *et al.*, 2018; CAMURÇA-VASCONCELOS *et al.*, 2005).

Fisiologicamente a ansiedade ocasiona o aumento da frequência cardíaca, alterando os parâmetros fisiológicos. Rashidi-Fakari e colaboradores (2019) foram responsáveis por um estudo clínico randomizado que avaliava o efeito da aromaterapia do OEL sobre a ansiedade durante o parto em mulheres nulíparas de 18 a 35 anos. Durante o trabalho de parto as mulheres estão sujeitas a consequências negativas como insuficiência uteroplacentária e hipóxia fetal (RASHIDI-FAKARI *et al.*, 2015). Desta forma, 96 mulheres foram divididas em 2 grupos: grupo intervenção e grupo controle. Em ambos os grupos foram avaliados os parâmetros fisiológicos (pressão arterial sistólica e diastólica, pulso e taxa de respiração), além disso, foi utilizado o inventário



de Spielberger que mede o nível de ansiedade. O grupo controle foi exposto a duas gotas de água destilada (placebo) e o grupo intervenção ao OEL na concentração 2%. Após o tempo de 20 minutos, a pressão arterial foi aferida por um esfigmomanômetro, juntamente com as taxas de respiração e pulso. Os resultados demonstraram que o grupo intervenção obteve maior redução dos níveis de ansiedade quando comparado ao grupo controle. Nenhuma mudança significativa foi encontrada nos parâmetros fisiológicos, porém a pressão arterial diastólica e a taxa de pulso das mulheres no grupo de intervenção foram menores, concluindo que o aroma do OEL pode ser útil em unidades de parto como ferramenta auxiliar nessa condição (RASHIDI-FAKARI *et al.*, 2015).

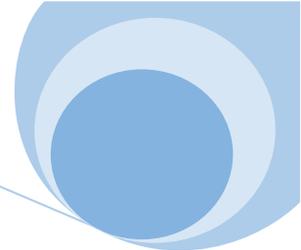
Em um delineamento experimental duplo-cego randomizado, o efeito ansiolítico do OEL foi avaliado em 40 voluntários do sexo masculino com idade de 18 a 30 anos submetidos à situação ansiogênica. Esses voluntários eram estudantes de graduação e foram selecionados através da utilização de um questionário clínico estruturado em versão traduzida e adaptada da Ansiedade Traço-Estado Inventário (STAI). O OEL foi administrado por inalação através de gotas (cada gota corresponde a 25µl de OEL) colocadas em uma máscara cirúrgica durante 5 minutos. Imediatamente após a inalação, cada voluntário foi submetido a: um modelo de ansiedade originado da versão monitorada em vídeo do *Stroop Color-Word Test* (SCWT), e parâmetros psicológicos de ansiedade-estado, tensão subjetiva, tranquilização e sedação foram observados juntamente com avaliações fisiológicas (frequência cardíaca e eletromiograma gastrocnêmio). Os voluntários do grupo controle reagiram como o esperado, aumentando significativamente a ansiedade durante o teste de Stroop. As doses 2.5 e 10 gotas do OEL apresentaram atividade ansiolítica e a dose mais alta demonstrou melhor resultado na prevenção de sinais de ansiedade, além de fazer os voluntários se sentirem mais energéticos durante a execução do teste. Contudo, foi observada maior introversão do grupo OEL, o que foi descrito como maior concentração durante a tarefa. Quanto aos parâmetros fisiológicos, não houve diferença significativa entre os grupos. Neste estudo, o limoneno correspondia a 54,4% dos componentes do OEL (GOES *et al.*, 2012).

Um ensaio clínico randomizado controlado utilizando OEL foi realizado com crianças durante tratamento odontológico, com a avaliação do cortisol salivar e pulso como medidas de ansiedade. Trinta crianças (10 meninos e 20 meninas) de 6 a 9 anos de idade participaram do estudo. As crianças foram divididas em 2 grupos com 15 indivíduos cada e submetidas a dois procedimentos odontológicos indolores. Metade das crianças foi tratada na primeira sessão utilizando água (controle) e OEL na segunda



sessão (intervenção). Outras 15 crianças receberam o tratamento com OEL no primeiro encontro (intervenção) e na segunda visita ao consultório não havia aroma (controle). Sendo uma sessão com intervenção (inalação do OEL através de difusor) e outra sessão sem intervenção (controle). Para o grupo intervenção, 2 mL de OEL foram colocados no difusor de ambientes que estava programado para ser ativado por 2 minutos a cada 10 minutos. Esse estudo demonstrou diferença significativa, pois o OEL pode reduzir o cortisol salivar e a taxa de pulso devido à ansiedade das crianças. Neste estudo o composto majoritário, limoneno, tinha concentração de 92% (JAAFARZADEH *et al.*, 2013).

Dessa forma, conclui-se que o OEL é um promissor fármaco ansiolítico visto que apresenta resultados satisfatórios em estudos com humanos, porém, ainda há a necessidade de estudos com amostragem maior e com critérios mais definidos, sugerindo doses e tempo de exposição maiores.



4. REFERÊNCIAS

ANDRÉ W. P. P.; *et al.* Essential oil and their bioactive compounds in the control of gastrointestinal nematodes of small ruminants. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 46, p.1522, 2018.

ARAÚJO-FILHO J. V.; *et al.* Effects of *Eucalyptus citriodora* essential oil and its major component, citronellal, on *Haemonchus contortus* isolates susceptible and resistant to synthetic anthelmintics. *Industrial Crops and Products*, v. 124, p. 294-299, 2018.

CAMURÇA-VASCONCELOS A. L. F.; *et al.* Validação de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 7, n. 3, p. 97-106, 2005.

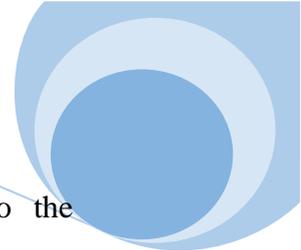
CHIDAMBARA M.K. N.; *et al.* D-limonene rich volatile oil from blood oranges inhibits angiogenesis, metastasis and cell death in human colon cancer cells. *Life Sciences*, v. 91, n. 11-12, p. 429-439, 2012.

COHEN S. D.; *et al.* Anxiety in patients treated with hemodialysis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, v. 11, p. 2250–2255, 2016.

DOBETSBERGER C.; BUCHBAUER G. Actions of essential oils on the central nervous system: An updated review. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 26, n. 5, p. 300-316, 2011.

FAOSTAT- Food and Agriculture Organization of the United Nations. Production of Oranges: top 10 producers average 1994-2018. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>> Acesso em: 09 fev 2020.

GOES T. C.; *et al.* Effect of sweet orange aroma on experimental anxiety in humans. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, v. 18, p. 798-804, 2012.



HOCAYEN P. A. S; *et al.* The nitreergic neurotransmission contributes to the anxiolytic-like effect of *Citrus sinensis* essential oil in animal models. *Phytotherapy Research*, v. 33, n. 4, p. 901-909, 2019.

JAAFARZADEH M.; *et al.* Effect of aromatherapy with orange essential oil on salivary cortisol and pulse rate in children during dental treatment: A randomized controlled clinical trial. *Advanced Biomedical Research*, v. 2, p. 10, 2013.

LEHRNER J.; *et al.* Ambient odor of orange in a dental office reduces anxiety and improves mood in female patients. *Physiology & Behavior*, v.71, p. 83-86, 2000.

PAVELA R. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. *Industrial Crops and Products*, v. 76, p. 174-187, 2015.

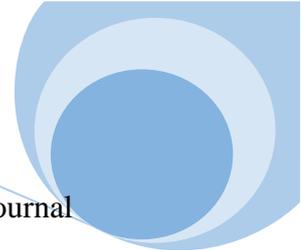
RASHIDI-FAKARI F.; *et al.* The effect of aroma therapy by essential oil of orange on anxiety during labor: A randomized clinical trial. *Iranian Journal of Nursing and Midwifery Research*, v. 20, p. 661-664, 2015.

SQUIRES J. M.; *et al.* Efficacy of an orange oil emulsion as an anthelmintic against *Haemonchus contortus* in gerbils (*Meriones unguiculatus*) and in sheep. *Veterinary Parasitology*, v. 172, n. 1-2, p. 95-99, 2010.

TAKEDA A.; *et al.* Effects of inhalation aromatherapy on symptoms of sleep disturbance in the elderly with dementia. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2017, p. 1-7, 2017.

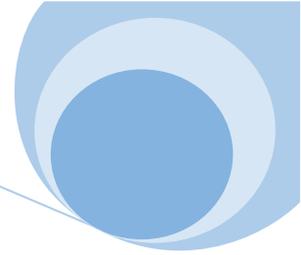
VELÁZQUEZ-NUÑEZ M.J.; *et al.* Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. *Food Control*, v. 31, p. 1-4, 2013.

VIEIRA A. J.; *et al.* Limonene: Aroma of innovation in health and disease. *Chemico-Biological Interactions*, v. 283, p. 97-106, 2018.



WANG L.; *et al.* Effects of orange essential oil on intestinal microflora in mice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 99, n. 8, p. 4019-4028, 2019.

WOLFFENBÜTTEL A. N.; *et al.* Citrus essential oils inhalation by mice: Behavioral testing, GCMS plasma analysis, corticosterone, and melatonin levels evaluation. *Phytotherapy Research*, v. 32, n. 1, p. 160-169, 2018.



Capítulo 8

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA AÇÃO CICATRIZANTE DO EXTRATO DE FOLHAS DA ESPÉCIE *Piper amalago L.*

Maiara de F Machado¹, Hugo CP Junior², Vera LP dos Santos³, Jane M Budel⁴,
João LC Ribas⁵

^{1,2}Graduandos do Curso de Biomedicina- Universidade Positivo, Curitiba/PR

³Escola Superior de Saúde, Biociência, Meio Ambiente e Humanidades, Centro
Universitário Internacional Uninter, Curitiba/PR

⁴Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de
Ponta Grossa, Ponta Grossa/PR

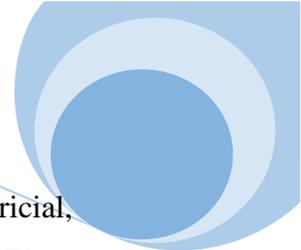
⁵Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Industrial- Universidade Positivo,
Curitiba/PR

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais é tão antigo quanto à espécie humana e essas plantas ganharam nos últimos anos um espaço importante na reparação de tecidos e na melhora do tratamento das feridas (AMOROZO & GELY, 1988; MORESKI; LEITE-MELLO & BUENO, 2018).

Dentre as famílias botânicas mais importantes destaca-se Piperaceae Giseke que se encontra distribuída nas regiões tropicais e subtropicais de ambos os hemisférios. É uma família que possui 2.658 espécies distribuídas em 13 gêneros por toda a América (THE PLANT LIST, 2013). O gênero *Piper* é o mais representativo apresentando cerca de 290 espécies e 44 variedades e no estado do Paraná são encontradas 54 espécies e 18 variedades (FLORA DO BRASIL, 2020).

Algumas espécies desse gênero são comumente encontradas na Amazônia brasileira e são usadas na cicatrização de feridas e entre elas destacam-se *Piper hispidum* Sw., *Piper anonifolium* Kunth e *Piper aleyreanum* C. DC. Nessas espécies os sesquiterpenos foram os compostos mais representativos. Eles apresentam ação anti-inflamatória, devido suas propriedades antioxidantes (SILVA *et al.*, 2014). Do mesmo modo que esses efeitos anti-inflamatórios são descritos amplamente nessas espécies



vegetais, as ações pró-cicatrizante, ou seja, que favorecem o processo cicatricial, também podem estar relacionados ao gênero *Piper*. Espécies do gênero *Piper* apresentam componentes presentes nos extratos obtidos de folhas, caules e raízes possuem atividades antioxidantes (FREITAS, 1999).

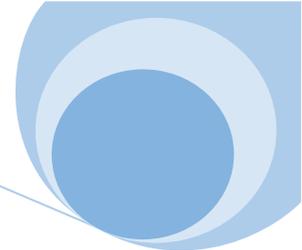
Entre as espécies de gênero *Piper* encontra-se a espécie *Piper amalago* L. conhecida popularmente como jaborandi-manso ou pimenta-da-jamaica, um arbusto que mede de 2 a 7 metros, podendo ser encontrado no México, América Central e América do Sul (GUIMARÃES & VALENTE, 2001). O chá das folhas de *P. amalago* é utilizado para o tratamento de pele, ferimentos e queimaduras (ALVES, 2008; BRATTI *et al.*, 2013), como cicatrizante (GUIMARÃES & VALENTE, 2001), analgésico e coagulante (BRATTI *et al.*, 2013).

O processo de cicatrização é comum a todas as feridas, independentemente do agente que a causou, é sistêmico e dinâmico e está diretamente relacionado às condições gerais do organismo. A cicatrização de feridas consiste em perfeita e coordenada cascata de eventos celulares, moleculares e bioquímicos que interagem para que ocorra a reconstituição tecidual (BROUGHTON *et al.*, 2006). Esse processo é complexo com o envolvimento de sinais químicos, organização de células e reconstrução e remodelamento da matriz extracelular, para que ocorra o fechamento rápido da lesão para obtenção de uma cicatrização funcional (MENDONÇA *et al.*, 2009).

O presente estudo tem como objetivo analisar o potencial efeito da ação cicatrizante das folhas de *Piper amalago*.

2. METODOLOGIA

O presente estudo é de uma revisão bibliográfica do tipo integrativa, com critérios de inclusão de artigos baseados em dois parâmetros; artigos publicados de 2000 a 2019 e que apresentaram relação com o tema. O levantamento bibliográfico foi realizado nas bases de dados online, utilizando sites de busca como *SciELO*, *PubMed* e *Science Direct*, que continham os descritores: *Piper amalago*, ação cicatrizante, plantas medicinais. Foram obtidos 52 artigos e destes selecionados 15 para análise, por se encontrarem nos critérios de inclusão.



3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO

O mecanismo de cicatrização (Figura 1) e/ou regeneração tecidual de uma lesão é um complexo processo biológico que envolve uma cascata perfeita e coordenada de células e eventos moleculares que visa promover a reconstituição de tecidos lesionados (MENDONÇA *et al.*, 2009; MARTELLI *et al.*, 2016; LIMA *et al.*, 2012). Esse processo surge como uma resposta do tecido a lesões induzidas por traumas ou por procedimentos cirúrgicos e é caracterizado por três fases que se sobrepõem e apresentam característica específicas sendo elas a fase inflamatória, fase proliferativa e fase de remodelação (ISAAC *et al.*, 2010).

A primeira fase, a inflamatória tem início logo após o surgimento da lesão e inicia com vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, promovendo a quimiotaxia. Há um estímulo para que se inicie a cascata de coagulação visando a homeostasia no local onde o endotélio é lesado. Quando a cascata é iniciada são liberados diferentes fatores de crescimento pelas plaquetas que atraem neutrófilos para o local da lesão. Essas são as primeiras células a chegarem ao local e a produzir radicais livres que ajudam na eliminação de bactérias (CAMPOS, 2007; ALMEIDA *et al.*, 2008; ISAAC *et al.*, 2010).

Os macrófagos também atuam na fase inflamatória. Essas células migram para o local lesionado e desempenham papel fundamental no final do debridamento iniciado pelos neutrófilos, secretando citocinas e fatores de crescimento (CAMPOS, 2007).

A segunda fase, a proliferativa é dividida em quatro etapas: reepitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno (CAMPOS, 2007). A reepitelização ocorre precocemente se a membrana basal estiver intacta. As células epiteliais migram para a superfície superior da epiderme, ocorrendo reparo tecidual em três dias. Se houver lesão da membrana basal, as células epiteliais das bordas da ferida começam a proliferar tentando restabelecer a barreira protetora (CAMPOS, 2007). A angiogênese é estimulada pelo fator de necrose tumoral *alfa* (TNF- α), sintetizado principalmente por macrófagos e que se caracteriza pela migração de células endoteliais e formação de capilares, muito importantes para a cicatrização. A formação do tecido de granulação é a parte final da fase proliferativa, sendo os



fibroblastos e as células endoteliais, as principais células desse processo (CAMPOS, 2007).

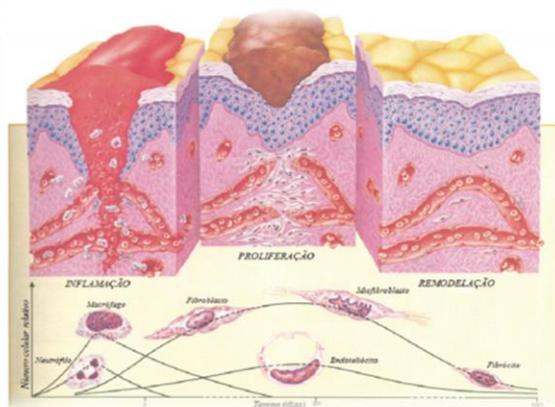
Na fase de remodelação atuam os fibroblastos que produzem o colágeno e o depositam de maneira organizada. O colágeno produzido inicialmente é o colágeno tipo III, menos espesso do que o colágeno presente na pele normal e com posição paralela à pele. Esse tipo de colágeno é substituído progressivamente pelo colágeno tipo I, mais espesso, resistente e organizado ao longo das linhas de tensão, ocorrendo um aumento da força tênsil da área lesionada através dessa mudança (CAMPOS, 2007; ISAAC *et al.*, 2010; PAGGIARO; NETO & FERREIRA, 2010; ABRUCEZE, 2013). A matriz antiga é destruída e a sua lise é promovida por colagenases secretadas por fibroblastos e leucócitos (CAMPOS, 2007; VILLELA, 2007; ISAAC *et al.*, 2010).

A parte final da fase proliferativa é a formação de tecido de granulação. Os fibroblastos e as células endoteliais são as principais células dessa fase. Os fibroblastos dos tecidos vizinhos migram para a ferida, porém precisam ser ativados para sair de seu estado de quiescência. O fator de crescimento mais importante na proliferação e ativação dos fibroblastos é o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF). Em seguida é liberado o fator de transformação de crescimento beta (TGF- β) que estimula os fibroblastos a produzirem colágeno tipo I e a transformarem-se em miofibroblastos, que promovem a contração da ferida (BROUGHTON *et al.*, 2006).

Por volta do décimo dia, a ferida encontra-se toda preenchida pelo tecido de granulação, neovascularizada e com presença de fibras colágenas, iniciando-se a última fase, de remodelamento (MANDELBAUM; DI SANTIS & MANDELBAUM, 2003; BALBINO *et al.*, 2005). Nesta fase, o tecido continua a ser enrijecido por mais fibras colágenas obtendo aparência de cicatriz (BALBINO *et al.*, 2005).

Patologias crônicas, como diabetes *mellitus*, têm um grande impacto na cicatrização de feridas e eles podem atrasar o processo de reparo do tecido devido a uma diminuição na resposta a fatores de crescimento e proteínas envolvidas na via de sinalização da insulina. Além disso, a excessiva produção de espécies reativas de oxigênio e a redução de nitrogênio óxido também estão envolvidas (GLENN, 2005; LIMA & ARAUJO, 2013).

Figura 1. Ilustração do processo de cicatrização.



Fonte: plasticaplexus.com.br/cirurgia-plastica/cicatrizacao/

3.2. PROPRIEDADES DA *Piper amalago L.*

Estudos realizados com as folhas e caule mostraram a presença de amidas que evidenciaram ação anti-inflamatória (CARRARA *et al.*, 2013; NOVAES *et al.*, 2013); antimicrobiana (CARRARA *et al.*, 2013), e anti-leishmania (CARRARA *et al.*, 2013).

A avaliação da composição química das raízes de *P. amalago* mostrou a presença, principalmente, de sesquiterpenos, pirrolidinas e isobutilamidas com efeitos leishmanicida (CARRARA *et al.*, 2013).

Na análise sistemática do extrato etanoico obtido das folhas de *P. amalago* foi caracterizada a presença de alcaloides; taninos condensados, flavonóis e terpenos (ROVANI *et al.*, 2013). A análise fitoquímica evidenciou a presença de vitexina e lupeol, indicando o potencial antioxidante dessa espécie (ROVANI *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2019).

A presença dessas substâncias desempenha um importante papel na modulação de células envolvidas na inflamação, além de otimizarem o processo de cicatrização (KOBAYASHI *et al.*, 2015; DAS *et al.*, 2016; HE *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2019).

P. amalago (Figura 2) é utilizada na medicina tradicional como digestiva, no tratamento de problemas cardíacos, como diurética e no tratamento de cálculo urinário (NOVAES *et al.*, 2013), para dores musculares e queda de cabelo (PAULA *et al.*, 2009). É usada ainda para emagrecimento, abscessos, furúnculos, febres e picadas de insetos.

O extrato bruto metanólico das folhas da *P. amalago* promoveu a cura de feridas de segunda intenção (COELHO *et al.*, 2009). Esse tipo de ferida se caracteriza por

apresentar perda excessiva de tecido com a presença ou não de infecção, não sendo possível a aproximação primária das bordas, uma vez que as feridas permanecem abertas.

Feridas cutâneas de camundongos tratadas com pomada de óleo de *Piper hispidinervum* na concentração de 2,5 %, teve o processo de reparação tecidual acelerado no oitavo dia e mais acentuado com doze dias de tratamento, apresentando características de regressão quanto ao reparo de feridas (JARDIM, 2011).

Segundo o relato de caso descrito por SANTOS *et al.*, (2019), a aplicação tópica do extrato aquoso obtido de folhas de *P. amalago* promoveu a cicatrização de uma ferida lacerada no polegar esquerdo de um paciente portador de diabetes *mellitus* tipo 2 após quinze dias de aplicação.

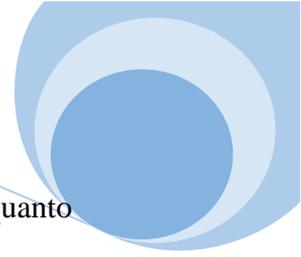
Figura 2. Imagem da espécie *Piper amalago* L.



4. CONCLUSÃO

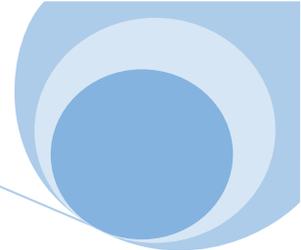
Desde a antiguidade ocorre o uso de plantas medicinais para o tratamento de doenças, e essa utilização ainda persiste, seja através da ideia do senso comum, ou de estudos realizados que comprovem determinada eficácia, devido à presença de componentes químicos presentes nos extratos dessas plantas.

No processo de cicatrização de feridas, o estudo acerca das folhas da *Piper amalago* é muito recente, porém pesquisas já realizadas mostraram evidências quanto ao



seu potencial cicatrizante, incluindo tanto a cura de feridas de segunda intenção, quanto a cura de um ferimento de um paciente diabético.

Contudo, ainda assim necessitam mais estudos que elevem a significância das propriedades medicinais acerca da planta, bem como o estabelecimento da sua relação com formas farmacêuticas mais eficientes que potencializem os seus efeitos e proporcionem ações benéficas a quem fizer seu uso.



5. REFERÊNCIAS

ABRUCZE L. H. B. Avaliação da eficácia dos biocurativos em ratos Wistar com lesões de pele causadas por queimaduras. 2013. 64 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Botucatu. Faculdade de Medicina de Botucatu, 2013.

ALMEIDA A. R. H.; *et al.* Utilização de plasma rico em plaquetas plasma pobre em plaquetas e enxerto de gordura em ritidoplastias: análise de casos clínicos. *Revista Brasileira de Cirurgia Plástica*, v. 23, n. 2, p. 82-8, 2008.

AMOROZO M. C. M.; GÉLY, A. L. Uso de plantas medicinais por caboclos do baixo Amazonas, Barcarena, PA, Brasil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Botânica*, v. 4, n. 1, p. 47-13, 1988.

BALBINO C. A.; PEREIRA L. M. CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 41, n. 1, p. 27-51, 2005.

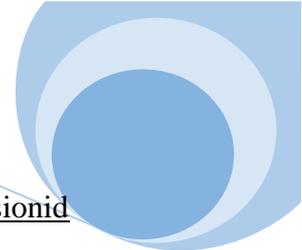
BROUGHTON G.; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E. Wound healing: an overview. *Plastic and Reconstructive Surgery*, v. 117, n. 7, p. 1e-S-32e-S, 2006.

CAMPOS A. C. L.; BORGES-BANCO A.; GROTH A. K. Cicatrização de feridas. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*, v. 20, n. 1, p. 51-8, 2007.

CARRARA V. S.; *et al.* Antileishmanial activity of amides from *Piper amalago* and synthetic analogs. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 23, n. 3, p.447-454, 2013.

DAS M. C.; *et al.* Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation by Vitexin: a combinatorial study with azithromycin and gentamicin. *Scientific Report*, v. 6, n. 23347, p. 1-13, 2016.

FLORA DO BRASIL. Administrado pelo Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2020. Disponível em:



<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/PrincipalUC/PrincipalUC.do;jsessionid=8E211F4D1DFCC2E3A0FF9F167D7D8C07#CondicaoTaxonCP>.

FREITAS P. C. D. F. Atividade antioxidante de espécies medicinais da família Piperaceae: *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq e *Piper regnellii* (Miq) C. DC. São Paulo: Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, p. 115, 1999.

GLENN I. Feridas: Novas abordagens, Manejo Clínico e Atlas Em Cores. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2005.

GUIMARÃES E. F.; VALENTE M. C. Piperaceae – Piper. In: REITZ, R. Flora Ilustrada Catarinense. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, 2001.

HE M.; *et al.* A review on the pharmacological effects of vitexin and isovitexin. *Fitoterapia*, v.115, p. 74-85, 2016.

ISAAC C.; *et al.* Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. *Revista Médica*, v. 89, n. 3/4, p. 125-131, 2010.

JARDIM I. M. Reparação de feridas cutâneas de camundongos tratadas com óleo de pimenta longa, *Piper hispidinervum* C. DC. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*, v. 9, n. 1, p. 258-276, 2011.

KOBAYASHI Y. T. S.; *et al.* Avaliação fitoquímica e potencial cicatrizante do extrato etanólico dos frutos de Jucá (*Libidibia ferrea*) em ratos Wistar. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 52, n. 1, p. 34-40, 2015.

LIMA M. H. M; ARAUJO E. P. Diabetes *mellitus* e o processo de cicatrização cutânea. *Cogitare Enfermagem*, v. 18, n. 1, p. 170–172, 2013.

LIMA C. R. O; *et al.* Cicatrização de feridas cutâneas e métodos de avaliação. Revisão de literatura. *Revista CFMV*, v. 56, p. 53-9, 2012.



MANDELBAUM S. H.; DI SANTIS É. P.; MANDELBAUM M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 78, n. 4, p. 393-410, 2003.

MARTELLI A.; *et al.* Microcorrente no processo de cicatrização: revisão da literatura. Archives Of Health Investigation, v. 5, n. 3, p. 134-39, 2016.

MENDONÇA F. A. S.; *et al.* Effects of the application of *Aloe vera* (L.) and microcurrent on the healing of wounds surgically induced in Wistar rats. Acta Cirúrgica Brasileira, v. 24, n. 2, p. 150-55, 2009.

MORESKI D. A. B.; LEITE-MELLO E.V. D. S.; BUENO F.G. Ação cicatrizante de plantas medicinais: um estudo de revisão. Arquivos de Ciência da Saúde UNIPAR, v. 22, p. 63-69, 2018.

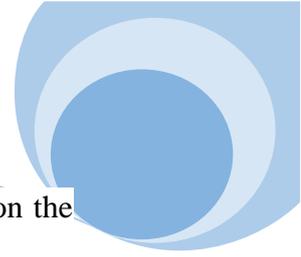
NOVAES A. S.; *et al.* Diuretic and antilithiasic activities of ethanolic extract from *Piper amalago* (Piperaceae). Journal of Ethnopharmacology, v. 21, n. 4, p. 523-528, 2013.

PAGGIARO A. O.; NETO N. T.; FERREIRA M. C. Princípios gerais do tratamento de feridas. Revista Médica. v. 89, n. 3-4, p. 132-136, 2010.

PAULA M. C. Z.; *et al.* Levantamento etnofarmacológico e resgate de germoplasma em remanescentes florestais da floresta estacional semidecidual no oeste do Paraná, Brasil. Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Toledo, p. 41, 2009.

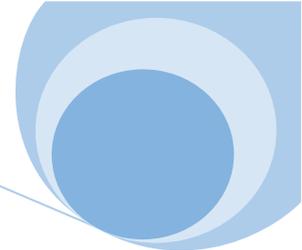
SANTOS V. L. P.; *et al.* The wound healing effect of aqueous extract from *Piper amalago* L. in diabetic patient. Explore - The Journal of Science and Healing, p. 1-4, 2019.

SILVA J. K. R.; *et al.* Essential oils of Amazon *Piper* species and their cytotoxic, antifungal, antioxidant and anti-cholinesterase activities. Industrial Crops and Products, v. 58, p. 55-60, 2014.



THE PLANT LIST. Version 1.1. A working list of all plants species. Published on the Internet, 2013. Disponível em: < <http://www.theplantlist.org/> >.

VILLELA D. L. Terapia tópica de úlceras crônicas de perna com plasma rico em plaquetas-PRP: revisão sistemática da literatura. 2007. 154 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem), São Paulo. Universidade de São Paulo, 2007.



Capítulo 9

UTILIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS NO DESENVOLVIMENTO DE VACINAS

Rhaysa AT Santos¹ Everton Padilha²

¹Bacharel em Biomedicina pela Universidade Paranaense/PR

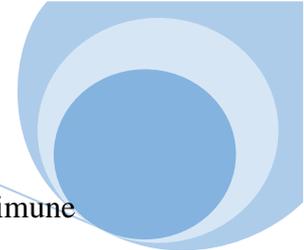
²Docente do curso de Biomedicina na Universidade Paranaense/PR

1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia tem como objetivo desenvolver e produzir materiais em escala nanométrica em prol das necessidades do homem, assumindo assim, um importante papel na área da saúde e na indústria farmacêutica. Utiliza-se de partículas manipuladas de tamanho nano, que são caracterizadas por possuírem uma alta superfície de contato, para formulação de materiais mais eficazes nas terapias farmacológicas e nas aplicações médicas. Na área de prevenção, tornou-se almejado a utilização de nanomateriais no desenvolvimento e formulação de novas vacinas, visando uma melhor modulação da imunidade e maior eficácia da resposta imunológica (COELHO, 2017).

A moderação da liberação de fármacos em sítios de ação específicos, por meio de vetores, é uma área bastante pesquisada. Visando a potencialização do princípio ativo, controle da dosagem e liberação dentro do organismo, vetores como micropartículas e sistemas coloidais são usados como carreadores do fármaco. Nanopartículas biodegradáveis demonstraram maior estabilidade no organismo e durante o armazenamento do fármaco. O grande objetivo é desenvolver esses sistemas tencionando diversas aplicações terapêuticas e diferentes formas de administração do medicamento. (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003)

Na área da vacinologia é sempre almejada a descoberta de novos adjuvantes, sendo um de seus principais objetivos. Estudos demonstraram a possibilidade de utilizar nanopartículas metálicas (MeNPs) no desenvolvimento de sistema vacinais bem como auxiliar na imunogenicidade dos mesmos. As MeNPs também demonstraram viabilidade em estimuladores de sistema imune inato. Os adjuvantes possuem diversos



mecanismos de ação e devem ser selecionados com base no tipo de resposta imune desejada (MARQUES NETO, 2018).

2. UTILIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

O uso de nanopartículas utilizadas no carreamento de fármacos apresenta diversas vantagens que podem ser aplicadas dentro da vacinologia. Idealmente, um fármaco deve permanecer em circulação sistêmica tempo suficiente para atingir seu efeito terapêutico, com máxima eficácia e em doses mínimas. O encapsulamento por nanossistemas têm como objetivo preservar o fármaco contra sua degradação antecipada, estimular sua solubilização controlada, além da possibilidade de auxiliar no direcionamento ao tecido ou célula-alvo. Os maiores benefícios dos nanossistemas de liberação controlada de fármaco são: maior controle da liberação do princípio ativo; menor quantidade utilizada do princípio ativo e maior intervalo de administração (ROSSI-BERGMANN, 2008).

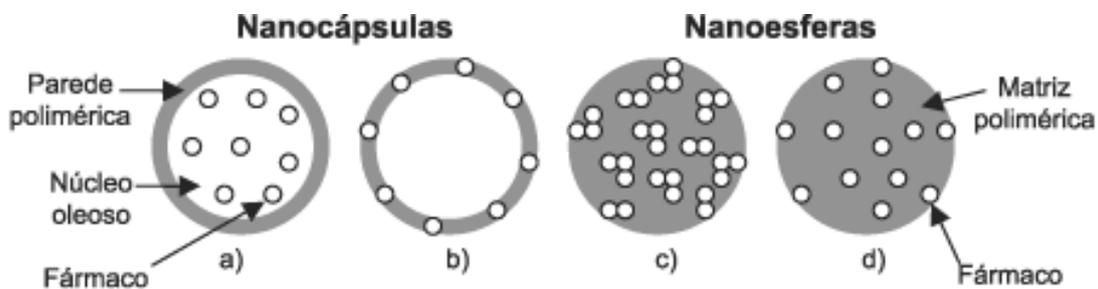
O desenvolvimento e aplicação de novas tecnologias nas pesquisas buscam promover uma vacina resposta imunológica igualmente eficaz, se comparada com as vacinas constituídas pelo organismo morto ou vivo atenuado. No caso das nanopartículas, espera-se que as mesmas sejam imunogênicas e modulem uma resposta imunológica do sistema inato, tal qual quando o organismo se depara com o antígeno, ou atuem como carreadoras e transportem a substância diretamente às células-alvo. As nanopartículas têm de ser reconhecidas, internalizadas e apresentadas pelas células apresentadoras de antígeno (APCs) às células do sistema imunitário para gerarem uma resposta imune e eventualmente desenvolver uma memória imunológica. Para obter esse processo mais eficiente de vacinação, é necessário que o material veiculado não seja tóxico, torna-se categórico conhecer as nanopartículas e as vias de internalização para minimizar a toxicidade do que está associado (COELHO, 2017).

3. TIPOS DE NANOPARTÍCULAS

As nanopartículas poliméricas constituem nanocápsulas e nanoesferas (Figura 1) com diâmetro menor que 1 μm , representando uma alternativa tecnológica com excelente biocompatibilidade, biodegradável e atóxica. As nanocápsulas são sistemas

vesiculares em escala nano de uma membrana polimérica que encapsula a substância ativa homogeneamente dispersa no interior da matriz ou adsorvida à parede polimérica. Já as nanoesferas não possuem estruturas oleosas, deixando o fármaco retido ou disperso na matriz polimérica (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003).

Figura 1. Representação esquemática de nanocápsulas e nanoesferas poliméricas: 1) Nanocápsula com fármaco dissolvido no seu núcleo; 2) Nanocápsula com o fármaco adsorvido na membrana polimérica; 3) Nanoesfera com fármaco retido na sua matriz polimérica; 4) Nanoesfera com fármaco adsorvido ou disperso na matriz polimérica.

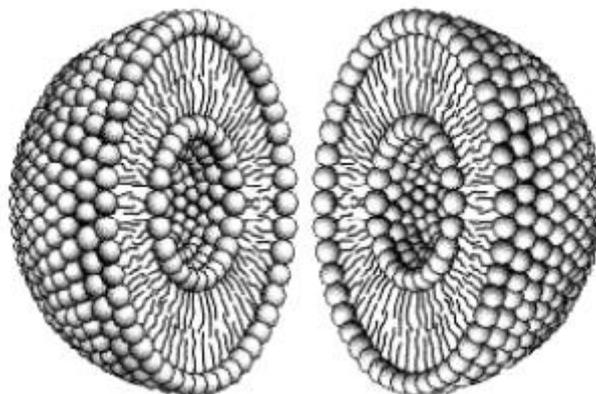


Fonte: Adaptado de Schaffazick *et al.*, 2003.

Os lipossomas (Figura 2) são vesículas compostas de fosfolipídios que se formam através de processos induzidos e bastante utilizados na nanotecnologia por sua capacidade de armazenar e encapsular substâncias farmacológicas, além da possibilidade de carreamento dessas substâncias à células-alvo, órgãos ou tecidos desejados por meio de receptores químicos. Devido a sua semelhança bioquímica com o organismo espera uma reação adversa nula ou atenuada após a liberação do princípio ativo.

São sistemas versáteis que podem ter suas características físicas e químicas alteradas de acordo com a necessidade farmacológica, conferindo maior eficácia em processos de liberação progressiva do fármaco encapsulado, direcionamento da droga ao sítio receptor desejado e ínfimas reações alérgicas locais. Os lipossomas já são destaques no tratamento de algumas doenças de grande escala como a Doença de Chagas. Ainda são tidos como transportadores de agentes imunobiológicos e antimicrobianos (MACHADO, GNOATTO & KLÜPPEL, 2007).

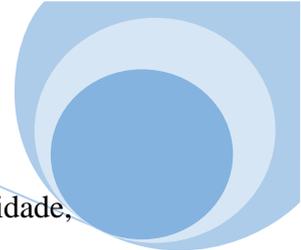
Figura 2. Representação de um lipossoma dividido ao meio para evidenciar a sua estruturação interna constituída de um núcleo polar cercado por uma bicamada de fosfolipídios.



Fonte: Adaptado de MERTINS, 2008.

As nanopartículas metálicas (MeNPs), como as de prata, possuem diversas aplicações e propriedades ópticas e catalíticas utilizadas em inúmeros itens de uso rotineiro como sensores e chips eletrônicos. Também é amplamente pesquisada no campo da medicina por suas propriedades antimicrobianas e capacidade de combater diversos patógenos. Desde a antiguidade a prata é utilizada como antibiótico e bactericida. Porém estudos recentes, realizados por pesquisadores da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), demonstram que a prata, ao ser reduzida à escala nanométrica, tem seu potencial bactericida ampliado, além do baixo custo e facilidade de preparação. Mesmo existindo diversos métodos de síntese das nanopartículas de prata, o método de redução química da prata, utilizando-se o boro-hidreto de sódio e polivinilpirrolidona (PVP – estabilizante para prevenção da agregação), tem sido o método mais utilizado (NOGUEIRA, PAINO & ZUCOLOTTI, 2013). No entanto, a grande preocupação da nanomedicina no uso das MeNPs é o grau de toxicidade e reações adversas no organismo humano.

A sílica é um composto inorgânico originado a partir da combinação de silício e oxigênio, e é constituído de grupos siloxanos (Si-O-Si) em seu interior e grupos silanóis (Si-OH) na superfície. Nanopartículas de sílica são nanoestruturas que possuem alta área de superfície e estabilidade química e térmica, podendo ser maciças ou porosas. Possuem capacidade de adsorver biomoléculas no seu interior, possibilitando a liberação do princípio ativo de forma lenta e controlada (MANZANO & VALLET-REGÍ, 2010).



Por ser um material de custo relativamente baixo, de baixa ou nula toxicidade, fácil sintetização e alta compatibilidade química com diversos tipos de materiais, a sílica se mostra promissora para revestimento de outras nanopartículas (principalmente metálicas) para ampliar a estabilização desses nanossistemas em condições aquosas/fisiológicas (CUNHA, 2018).

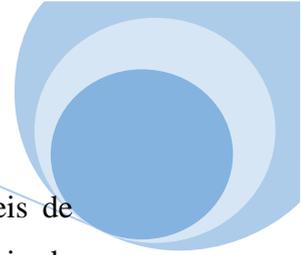
4. RESULTADOS E CONCLUSÃO

Além do amplo desenvolvimento de sistemas carreadores de fármacos, indubitavelmente, a nanotecnologia é um mercado em grande expansão dentro da indústria farmacêutica, onde os nanossistemas já estão sendo comercialmente inseridos em produtos como cosméticos, protetores solares e medicamentos para o tratamento de câncer (RUPPENTHAL, ALICE & BECK, 2013).

COELHO (2017), enfatiza que o meio de se obter vacinas mais eficazes é pelo uso de adjuvantes, como as nanopartículas, podendo elas serem moléculas estimuladoras do sistema imune inato, carreadoras do princípio ativo ou como potencializadoras da resposta imunitária contra um patógeno. Portanto é categórico, o conhecimento dos processos envolvidos no desenvolvimento das nanopartículas e sua integração no organismo, a fim de evitar toxicidades, reações adversas e garantir uma formulação eficaz.

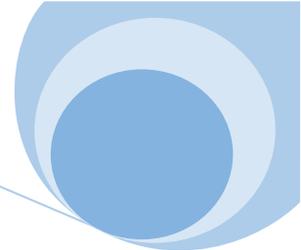
A utilização da nanotecnologia no desenvolvimento de novos adjuvantes para o desenvolvimento de novas vacinas na área da prevenção não é algo tão distante. Estudos comprovaram a eficácia das nanopartículas magnéticas como estimuladoras do sistema imune inato. MARQUES NETO (2018), utilizou nanopartículas magnéticas de ferrita de manganês recobertas com uma fusão de proteína recombinante e demonstrou que as nanopartículas obtiveram resultados positivos em gerar resposta imune dos tipos Linfócitos T auxiliares Th1, Th17 e T citotóxico dependendo da via de inoculação (subcutânea, intranasal ou mista), em camundongos infectados com *Mycobacterium tuberculosis*. Ainda, demonstrou-se que não houveram reações adversas, comprovando que a formulação é eficaz e segura.

A imunização por via nasal demonstra-se uma ótima alternativa, por ser indolor e não invasiva, além da mucosa ser altamente vascularizada e apresentar vantagens na imunização com nanopartículas por possuírem ampla superfície de contato, facilitando a



absorção de antígenos. YOSHIDA (2012), utilizou nanopartículas biodegradáveis de quitosana para avaliar a imunogenicidade da inoculação do antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg), via mucosa nasal em camundongos. O estudo obteve resultados positivos, demonstrando o a produção de IgG contra HBsAg e aumento da secreção de IgA na mucosa nasal.

A nanotecnologia representa uma mudança de paradigma no desenvolvimento de manobras terapêuticas para o sistema imunológico, contribuindo com inovações em tratamentos, produções científicas e com a área preventiva da medicina.



5. REFERÊNCIAS

COELHO D. J. C. Nanotecnologia & vacinologia: vias de internalização das nanopartículas e apresentação cruzada. Dissertação de Mestrado. Universidade de Coimbra, Coimbra, 2017.

CUNHA J. A. Encapsulamento de nanopartículas magnéticas e curcumina em sílica visando aplicações biomédicas. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

MACHADO L. C.; GNOATTO, S. A.; KLÜPPEL, M. L. W. Lipossomas aplicados em farmacologia: uma revisão da literatura. Estudos de Biologia, v. 29, n. 67, 2007.

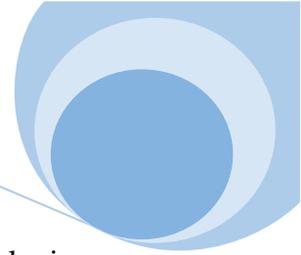
MARQUES NETO L. M. Uso de nanopartículas metálicas na vacinologia: implicações para o desenvolvimento de vacinas contra doenças infecciosas. 2018. 109 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia e Biodiversidade em Rede Pró-Centro-Oeste) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018.

MANZANO M.; VALLET-REGÍ M. New developments in ordered mesoporous materials for drug delivery. Journal of Materials Chemistry, v. 20, n. 27, p. 5593-5604, 2010.

MERTINS O. Estudos físico-químicos e estruturais de lipossomas compósitos de fosfatidilcolina e quitosana. 2008. 186 f. Tese (Doutor em química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2008.

NOGUEIRA P.; PAINO I.; ZUCOLOTTO V. Nanosilver: Propriedades, Aplicações e Impactos na Saúde Pública e Meio Ambiente. Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia, v. 1, n. 4, p. 59-71, 2013.

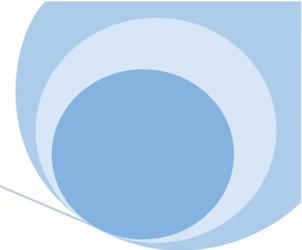
ROSSI-BERGMANN B. A nanotecnologia: da saúde para além do determinismo tecnológico. Ciência e Cultura, v. 60, n. 2, p. 54-57, 2008.



RUPPENTHAL J. E.; ALICE L.; BECK, R. A inovação em nanotecnologia farmacêutica no bloco econômico do BRIC. Revista Ciência e Tecnologia, v. 14, n. 24/25, 2012.

SCHAFFAZICK S. R. *et al.* Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. Química Nova, v. 26, n. 5, p. 726-737, 2003.

YOSHIDA J. T. Nanopartículas de quitosana como veículo de vacinação contra a hepatite B via nasal. 2012. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Fermentações) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.



Capítulo 10

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA PASTEURIZAÇÃO E ESTERILIZAÇÃO DE LEITES VENDIDOS EM TRÊS SUPERMERCADOS DA ASA NORTE EM BRASÍLIA-DF

Beatriz P Cardoso¹, Marcus V Da S Coimbra²

¹Bacharel em Biomedicina, Universidade Paulista, Brasília/DF.

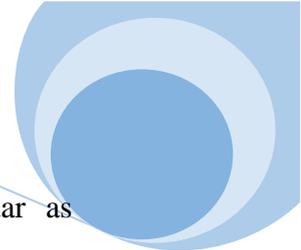
²Doutor em ciências (microbiologia), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil está entre os países que mais consomem leite no mundo e esse número cresce 4% ao ano, tendo a produção de 66% de leites do Mercosul. Sendo assim, este alimento tem uma grande importância na economia brasileira (CARVALHO *et al.*, 2003).

O leite de vaca provém da ordenha completa, sem interrupção, de forma higiênica, de vacas saudáveis, nutridas e repousadas. Na resolução nº 065/2005 no capítulo I, Art. 1º denomina-se leite, sem adicionais denominações, o produto fresco e integral, excretado pelas glândulas mamárias de fêmeas sadias por meio de ordenha ininterrupta feitas em condições higiênico-sanitárias que não prejudiquem sua qualidade (BRASIL, 2005).

O leite possui vários nutrientes, é uma excelente fonte de cálcio e fósforo, a gordura do leite é fácil de ser digerida, é rica em ácidos graxos que previnem o câncer e pode até reduzir níveis de colesterol total e triglicerídeos (FEPELE, 2011). Por outro lado, por conta desses nutrientes o leite é um ótimo meio para que se desenvolvam microrganismos (JASSON *et al.*, 2010). Temperaturas elevadas têm sido usadas na segurança ou conservação dos alimentos, para eliminar microrganismos. O domínio do



crescimento microbiano busca eliminar riscos à saúde e prevenir ou retardar as alterações químicas nos alimentos(LOPES & STAMFORD, 1997).

Luis Pasteur, um químico francês, em 1837 descobriu que o leite azedava por conta de microrganismos e a partir de experimentos que já tinha aplicado para conservação do vinho, onde aquecia o produto a baixas temperaturas e depois deixava descansar por um período e aquecia novamente, decidiu também utilizar o mesmo processo, hoje denominado de pasteurização, para a conservação do leite(ROQUE, SCHUMACHER & PAVIA, 2003).

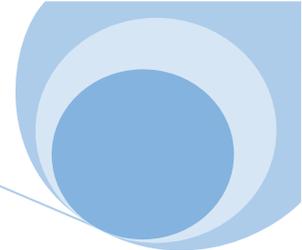
Atualmente existem várias derivações da pasteurização desenvolvida por Pasteur, dentre elas podemos destacar dois tipos principais, a forma lenta, artesanal, e a rápida, feita na indústria. A lenta é feita a 65°C por 39 minutos, nesta o leite deve ser agitado para aquecer de forma igual, para evitar espumas e também fazer com que não tenha aderência às paredes do recipiente(PELCZAR *et al.*, 1996).

A rápida de 72 a 75 °C por 15 a 20 segundos, em um grande equipamento em que ocorre troca de calor por meio de placas, é na maioria das vezes usado em indústrias de médio e grande porte. Essa temperatura correta foi determinada de acordo com a destruição da bactéria *Coxiella burnetii*, que resiste a altas temperaturas. Já na esterilização (UHT- *ultra high temperature*) o leite é submetido de 135 a 144 °C por 4 a 6 segundos (PELCZAR *et al.*, 1996).

Nos artigos número 10 e 11 do Regulamento da inspeção sanitária e industrial para leite e seus derivados da resolução nº 065/2005, diz que o leite só pode ser consumido pasteurizado ou esterilizado, além do que é proibida a venda de leite cru onde tenha o fornecimento do leite já pasteurizado ou esterilizado(BRASIL, 2005).

A pasteurização pode assegurar a qualidade do leite. Porém, o leite deve ser ingerido em curto espaço de tempo, o que se relaciona com o tempo e temperatura de acondicionamento, desde a ordenha até o instante do processamento. A propriedade microbiológica do leite pasteurizado então depende da seleção da matéria-prima, da adequada pasteurização, das boas maneiras de fabricação e controle após o tratamento térmico(VIDAL & NETO, 2018).

Sabendo disso, este trabalho se propôs avaliar, por meio de testes físico-químicos, leites vendidos em três supermercados na Asa Norte Brasília-DF, discutindo se estão aptos ou não ao consumo humano segundo as normas vigentes.



2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisadas cinco marcas de leite provenientes de três supermercados da Asa Norte em Brasília-DF, sendo três pasteurizados e dois esterilizados. Assim que foram adquiridos, os leites foram armazenados na geladeira do laboratório quando chegaram à Universidade, para a conservação, e evitar que houvesse proliferação de microrganismos. Constavam nas embalagens que eram pasteurizados ou UHT além de todas as exigências para rótulo de acordo com o art. 60 do Regulamento anexo ao Decreto Estadual nº 3.005/2000 (BRASIL, 2000).

As amostras foram classificadas da seguinte forma: são dois leites UHT (*Ultra High Temperature*), sendo o primeiro A1 e o segundo B2. E os três leites pasteurizados eram C1, D2 e E3.

Os testes físico-químicos foram realizados no laboratório da Universidade Paulista campus Brasília, em triplicata. Foi observada a acidez em ácido láctico, onde uma alta acidez indicaria acidificação da lactose, açúcar do leite, que ocorre quando há um aumento da presença de microrganismos à medida que o leite for envelhecendo (LUTZ, 1985). E a estabilidade ao álcool 70% onde a coagulação acontece por conta da alta acidez ou falta de equilíbrio salino, quando ocorre a desestabilização das micelas do leite (responsáveis pela estabilização após o tratamento térmico) pelo álcool (SILVA *et al.*, 1997).

DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ EM ÁCIDO LÁCTICO

Foi adicionado 10 mL de leite em Erlenmeyer, em seguida, cinco gotas de fenolftaleína. Titulou-se com hidróxido de sódio 0,1 M (onde se diluiu 4 g de hidróxido de sódio em água destilada, para o preparo do reagente) até se observar uma coloração rosa (LUTZ, 1985).

TESTE DO ÁLCOOL 70%

Adicionou-se, em um tubo de ensaio com capacidade para cinco ml, utilizando pipetas automáticas, 2 mL de leite e 2 mL de álcool, foi misturado cuidadosamente e

observado. Resultados que eram possíveis: Estável (Figura 1): não haveria coagulação; Não estável (Figura 2): haveria coagulação (SILVA *et al.*, 1997).

CONTROLE POSITIVO

Foi inoculado *Escherichia coli* em uma amostra UHT e um pasteurizado, colocado na estufa por 24h e depois foram feitas as provas do álcool e de acidez.

3. RESULTADOS

De acordo com a legislação, o leite é considerado dentro da normalidade de pasteurização e esterilização quando apresenta parâmetros físico-químicos de acidez titulável entre 14 e 18, com resultado do álcool negativo, ou seja, ausência de coagulação (BRASIL, 2011).

Na Tabela 1 e Figuras 3 podemos ver os resultados do teste do álcool, onde todas as amostras deram o resultado de estáveis, não ocorrendo coagulação o que indica que o equilíbrio salino está correto. Esta análise é útil para atestar a eficácia da pasteurização e esterilização do leite, mostrando que houve a estabilização térmica que ocorre nesses processos (NETO *et al.*, 2014).

No artigo 107, parágrafo 2º inciso II diz que o leite deverá passar pela análise de acidez, mediante emprego do acidímetro de Dornic ou por ácido láctico, considerando como prova complementar a da cocção do álcool ou alizarol, para apurar anormalidades (BRASIL, 2005).

Tabela 1. Teste do álcool realizado em triplicata.

Amostra	1	2	3
A1 UHT	Estável	Estável	Estável
B2 UHT	Estável	Estável	Estável
C1 Pasteurizado	Estável	Estável	Estável
D2 Pasteurizado	Estável	Estável	Estável
E3 Pasteurizado	Estável	Estável	Estável

Fonte: elaboração da autora, 2019.

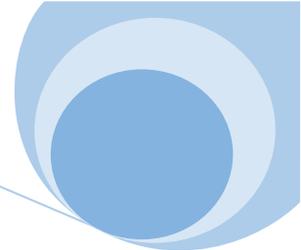


Figura 1. Resultado estável no teste do álcool em 2019.



Fonte: elaboração da autora, 2019.

Figura 2. Resultado instável em 2019.



Fonte: elaboração da autora, 2019.

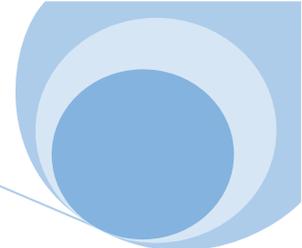
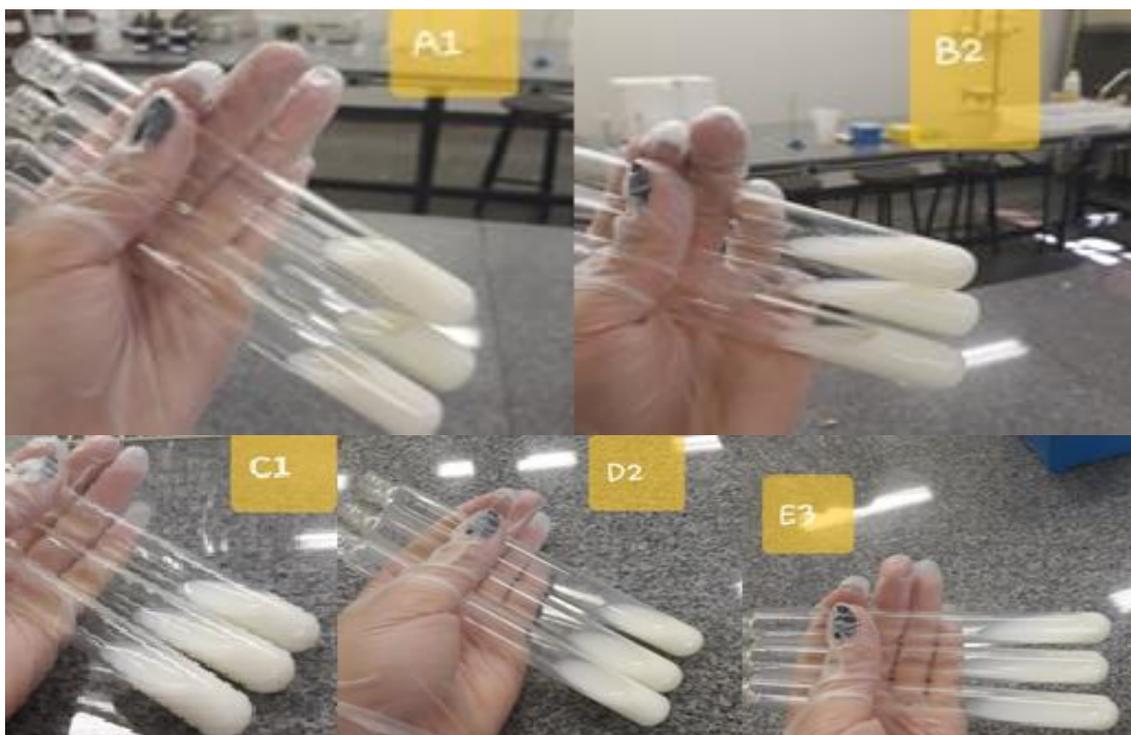


Figura 3. Resultados do teste do álcool, dispostos do A1 ao E3 em 2019.



Fonte: elaboração da autora, 2019.

A Tabela 2 mostra os resultados do teste da determinação de acidez por ácido láctico. Onde o normal é de 14 a 18 por cento m/v de ácido láctico, mostrando que não ocorreu acidificação da lactose. Na Tabela 3 temos a média e o desvio padrão do teste de acidez. (BRASIL, 2011).

Tabela 2. Teste de acidez em ácido láctico realizado em triplicata.

Amostra	1	2	3
A1 UHT	18	17,1	17,1
B2 UHT	16,1	15,3	15,3
C1 Pasteurizado	15,3	16,2	17,1
D2 Pasteurizado	18	17,1	18
E3 Pasteurizado	18	16,2	18
Valor de referência: 14 a 18 por cento m/v de ácido láctico.			

Fonte: elaboração da autora, 2019.

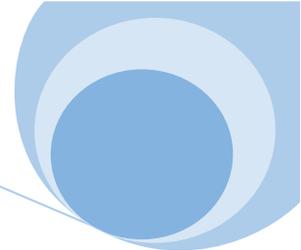


Tabela 3. Média e desvio padrão dos resultados do teste de acidez.

Amostra	Média	Desvio padrão
A1 UHT	17,4	0,42
B2 UHT	15,6	0,42
C1 Pasteurizado	16,2	0,73
D2 Pasteurizado	17,7	0,42
E3 Pasteurizado	17,2	0,85

Fonte: elaboração da autora, 2019.

Como controle positivo inoculamos colônias de *Escherichia coli* em uma amostra de leite pasteurizado e um UHT, os resultados encontrados estão na Tabela 4 e Figura 4.

Tabela 4. Controle positivo.

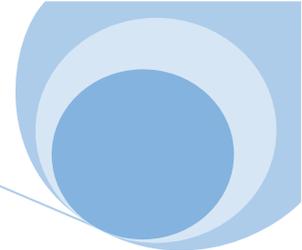
Testes	Acidez em ácido láctico	Álcool
UHT	63	Instável
Pasteurizado	81	Instável

Fonte: elaboração da autora, 2019.

Figura 4. Controle positivo em 2019.



Fonte: elaboração da autora, 2019.



4. DISCUSSÃO

Antes da pasteurização e esterilização o consumo de leite constantemente levava a surtos de intoxicação alimentar, pela contaminação causada pela microbiota do leite cru, ou seja, fungos, leveduras, muitas bactérias Gram positivas e negativas. Para aumentar a garantia do leite e derivados, a pasteurização e sua forma tecnológica mais recente o UHT foram inseridas a fim de aumentar a vida útil do leite, portanto o tratamento do leite cru se faz essencial, assim como o controle dos processos(MENEZES *et al.*, 2014).

O aparecimento de microrganismos, sejam eles deteriorantes ou patogênicos, gera como resultado no leite uma acidificação, sendo esta provavelmente originada por meio da fermentação da lactose (LUTZ, 1985).

Em nosso trabalho os resultados do teste de acidez e do álcool ficaram dentro do estabelecido que é de 14 a 18 por cento m/v de ácido láctico, conforme apresentado nas tabelas 2 e 1, respectivamente. Estes resultados diferem de um estudo realizado no estado de Alagoas, no qual de todas as amostras analisadas 7,5% estavam com acidez Dornic (Hidróxido de sódio N/9) fora dos padrões, que é de 0,14 a 0,18 °D. Para explicar essa porcentagem de leite fora dos parâmetros de referência, os autores sugeriram que poderia não ter havido refrigeração após a pasteurização, ou mesmo falta de higiene durante o processo de preparação do leite(SILVA *et al.*, 2008). Apesar da técnica utilizada para verificação da acidez provocada pelo ácido láctico os resultados podem ser intercambiáveis.

Em outro estudo, realizado no ministério da agricultura, também levando em consideração a acidez, amostras de leite pasteurizado apresentaram resultados satisfatórios, estando de acordo com a legislação, que determina limite de 0,14 a 0,18°D, pela técnica de acidez Dornic(BRASIL, 2011).

Conforme Rocha; Oliveira & Carvalho, (2016) em Barra Burguês-MT encontraram valores de acidez em graus Dornic, no leite UHT e pasteurizado, dentro do intervalo de 15,14±0,02 a 16,78±0,63 °D, já a acidez para o leite in natura apresenta valores na faixa de 14,25±1,26 a 18,71±1,26 °D(ROCHA; OLIVEIRA & CARVALHO, 2016), indicando neste estudo que os valores encontrados estavam dentro dos padrões. Mais uma vez corroborando os resultados experimentais do teste de acidez entre 15,3 e 18 ácido láctico por cento m/v, descritos na tabela 2 deste trabalho.

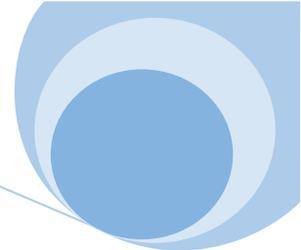


Por último visando uma confirmação dos resultados obtidos pelo teste de acidez do ácido láctico, assim como realizados em outros estudos. Também realizamos a prova de instabilidade ao álcool (Tabela 1). Sendo que nos cinco leites analisados obtivemos o resultado estável para o teste do álcool, o que confirmou os resultados obtidos pela prova de acidez.

5. CONCLUSÃO

Foram feitas análises físico-químicas em triplicata, o teste de acidez em ácido láctico e como prova complementar o teste do álcool, realizados em dois leites UHT e três pasteurizados, no laboratório da Universidade Paulista localizado em Brasília no Distrito Federal.

Os resultados indicaram que para as cinco amostras estudadas o método de pasteurização e esterilização - UHT (*ultra high temperature*), assim como a manipulação do produto após sua liberação da produção foram eficazes.



6. REFERÊNCIAS

BRASIL. DECRETO Nº 3.005. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, Paraná, 20 de Novembro de 2000. Disponível em: <https://sogi8.sogi.com.br/Arquivo/Modulo113.MRID109/Registro50125/documento%201.pdf>. Acesso em: mar/2020.

BRASIL. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 62. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento, Diário Oficial da União, Brasília, Seção 1, p.1-24, 2011.

BRASIL. Ministério do meio Ambiente. Resolução nº 065/2005. Regulamento da inspeção sanitária e industrial para leite e seus derivados, 2005.

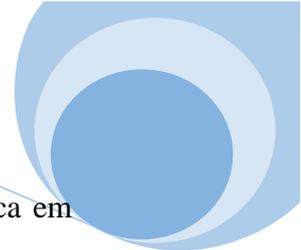
CARVALHO L. de A.; *et al.* Sistema de produção de leite (Zona da Mata Atlântica). Embrapa Gado de Leite. Sistemas de Produção. 2003. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteZonadaMataAtlantica/index.htm>. Acesso em: mar/2020.

FEPELE (Federação Panamericana de Lecheria). La leche y derivados: calidad nutricional superior para el ser humano. In: Asamblea 20. Aniversario. Punta del Este, Uruguay, p. 25, 2011. Disponível em: <https://fepale.org/documentos-asamblea-20-aniversario/>. Acesso em: mar/2020.

JASSON V.; *et al.* Alternative microbial methods: An overview and selection criteria. Food Microbiology, v.27, n.6, p.710-730, 2010.

LOPES A.C.S.; STAMFORD T.L.M. Pontos críticos de controle no fluxograma de beneficiamento do leite pasteurizado. Archivos Latinoamericanos de Nutricion, Caracas, v. 47, n. 4, p. 367-371, 1997.

LUTZ Adolfo. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, São Paulo: IMESP, ed. 3, v. 2, p. 203-204, 1985.



MENEZES M. F. C.; *et al.* Microbiota e conservação do leite. Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental – REGET, v. 18, p. 76-89, 2014.

NETO N. A. O.; *et al.* Avaliação físico-química e possível ocorrência de fraudes em amostras de leite comercializadas informalmente em Encanto-RN. Revista Educação Agrícola Superior, Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior - ABEAS [online] v.29, n.2, p.64-67, 2014.

PELCZAR JR.; *et al.* Microbiologia de alimentos. Microbiologia: conceitos e aplicações. São Paulo: Ed. Makron Books, ed. 2, p. 380, 1996.

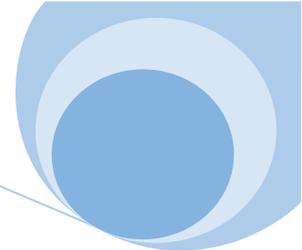
ROCHA K. L.; OLIVEIRA A. P.; CARVALHO J. W. P. Avaliação da qualidade do leite “in natura”, pasteurizado e esterilizado (UHT), comercializado em Barra do Bugres-MT. Enciclopédia Biosfera, v. 13, n. 23, p. 114-126, 2016.

ROQUE R. A.; SCHUMACHER S. S. P.; PAVIA P. C. Quantificação de microrganismos psicrótróficos em leites pasteurizados tipos B e C, comercializados na cidade de São Paulo, SP. Higiene Alimentar, São Paulo, v. 17, n. 112, p. 59-68, 2003.

SILVA M.C.D.; *et al.* Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas, Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.28, n.1 p. 226-230, 2008.

SILVA P. H.; *et al.* Físico-química do leite e derivados – Métodos analíticos. Juiz de Fora, Minas Gerais, p.21, 1997.

VIDAL A. M. C.; NETO A. S. obtenção e processamento do leite e derivados, faculdade de zootecnia e engenharia de alimentos da Universidade de São Paulo, 2018.



Capítulo 11

MICROBIOTA INTESTINAL E SUA RELAÇÃO COM PATOLOGIAS

Kelly CG De Almeida¹,

¹Biomédica, Mestranda em Clínica Médica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP.

1. INTRODUÇÃO

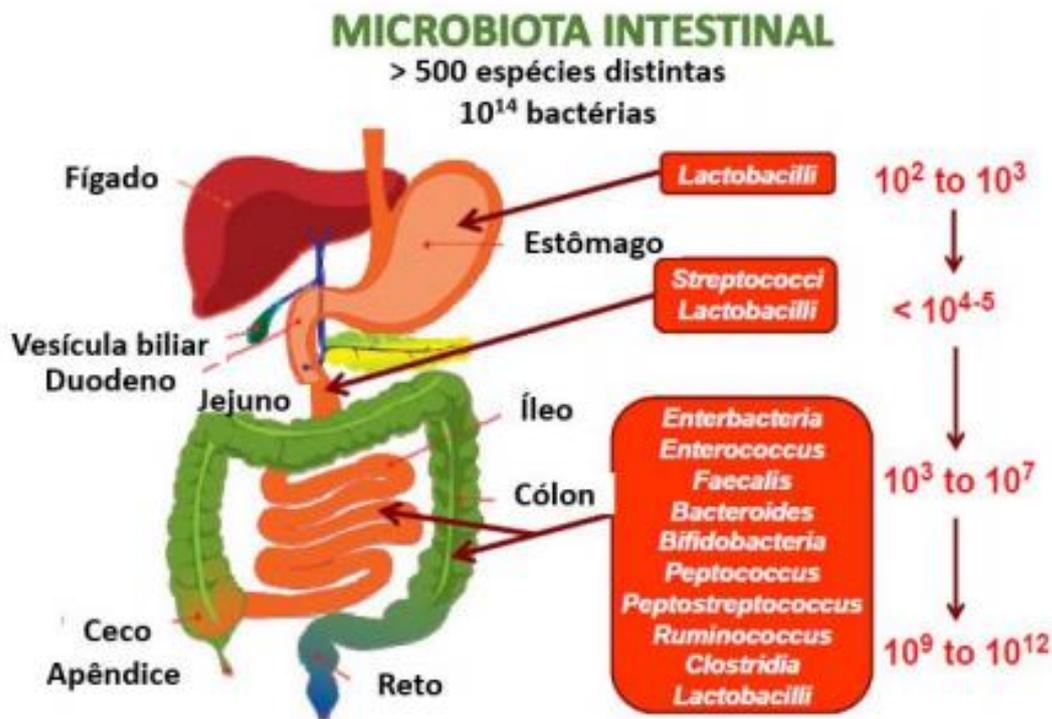
Mais de um trilhão de microrganismos influenciam o funcionamento do corpo humano (LESER & MOLBAK, 2009; SEKIROV *et al.*, 2010). A maior concentração de microrganismos é encontrada no trato gastrointestinal, sendo que a partir do íleo a concentração de bactérias aumenta gradualmente, alcançando 10^{11} a 10^{12} UFC/g no cólon, tendo sua distribuição influenciada pelo pH, oxigênio e disponibilidade de nutrientes (SUAU *et al.*, 1999).

O intestino humano contém um número imenso de microrganismos, conhecidos coletivamente como microbiota. Esta comunidade é dominada por bactérias anaeróbias e inclui aproximadamente 500 a 1.000 espécies nas quais se estima que os genomas coletivos contenham 100 vezes mais genes do que nosso próprio genoma humano. Nossa microbiota intestinal (Figura 1) pode ser retratada como um órgão microbiano que contribui para a nossa homeostase, suas funções são múltiplas e extremamente diversificadas.

Os benefícios das bactérias comensais são bem conhecidos: auxiliar na digestão de polissacarídeos vegetais, na biotransformação de conjugados ácidos da bile e na degradação de oxalatos; sintetizar e excretar vitaminas, como ocorre com bactérias entéricas, que produzem vitaminas K e B12 e bactérias lácticas, que produzem outras vitaminas do complexo B; impedir a colonização por patógenos, por meio da competição por sítios e nutrientes essenciais; antagonizar outras bactérias, por meio de síntese de substâncias inibidoras ou letais contra espécies não pertencentes à microbiota normal; promover o desenvolvimento de tecidos, como o ceco e tecido linfático no trato

gastrointestinal; estimular a produção de anticorpos naturais, em baixos níveis, contra os componentes da microbiota normal e que são capazes de reconhecer cruzadamente patógenos relacionados; ajudar o sistema imune na apresentação de antígenos, o que torna o organismo mais tolerante a alguns determinantes imunológicos, reduzindo assim as respostas alérgicas a comida e antígenos ambientais (CÂNDIDO; TUNON & CARNEIRO, 2009).

Figura 1. Distribuição bacteriana no trato gastrointestinal.



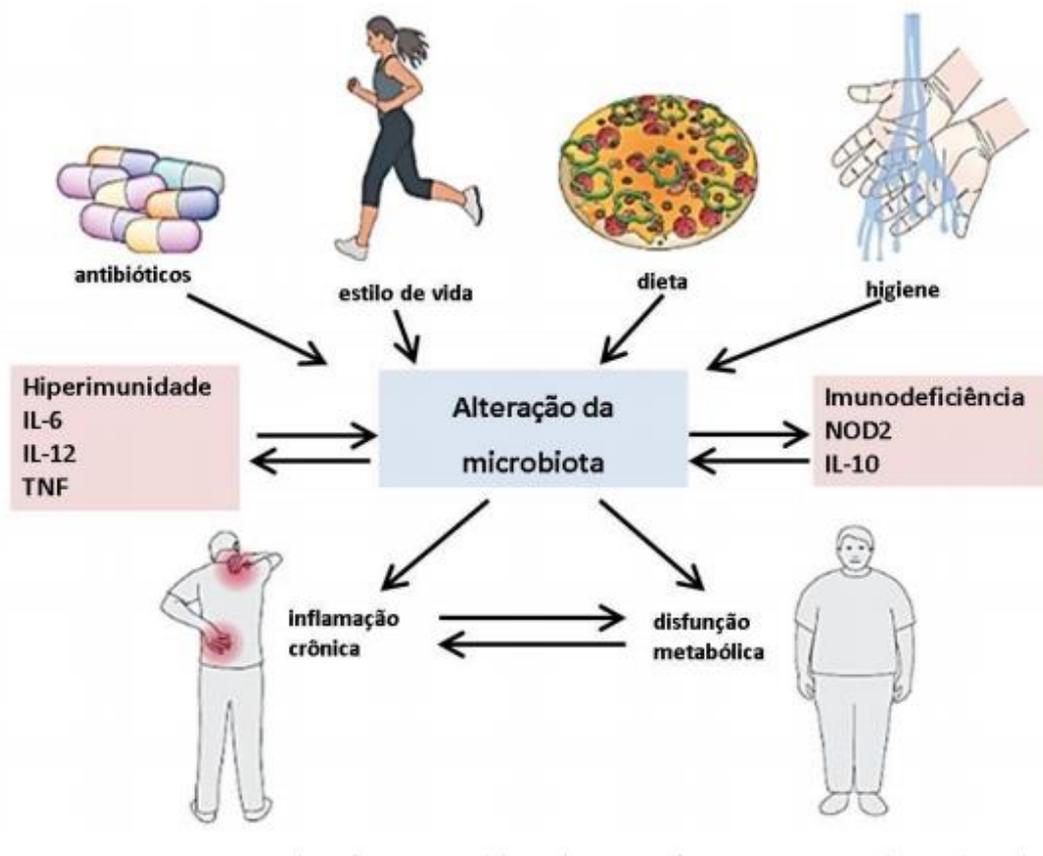
Fonte: Adaptado de Konturek *et al.*, (2015).

2. FATORES QUE AFETAM A MICROBIOTA INTESTINAL

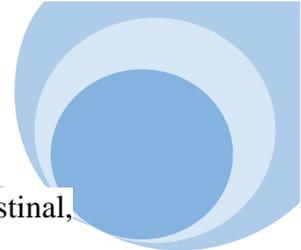
Apesar de nossa compreensão limitada sobre a composição da microbiota intestinal nativa, a evidência sugere que é estabelecida no primeiro ano de vida. Dentre os fatores que contribuem para o estabelecimento dessa flora os principais são: via do parto, tipo de aleitamento do recém-nascido e uso de medicamentos, especialmente os antibióticos (Figura 2). O processo de estabelecimento da microbiota se inicia no parto, quando o recém-nascido entra em contato com as bactérias existentes no ambiente e na flora vaginal da mãe. Estudos mostram que recém-nascido de parto cesáreo

pode apresentar um atraso de 30 dias na colonização do intestino com bactérias benéficas, em comparação com recém-nascidos de parto vaginal (GRONLUND *et al.*, 1999). Recém-nascidos amamentados com leite materno apresentam diferenças na flora se comparados com recém-nascidos que receberam fórmula. Através de estudos chegou-se à conclusão de que recém-nascidos amamentados com leite materno possuem uma barreira contra o crescimento excessivo de bactérias potencialmente patogênicas contra a flora, através da produção de acetato e lactato (WOLOWCZUK *et al.*, 2008). O uso de medicamentos, especialmente antibióticos consegue alterar a microbiota uma vez que a maioria destes é de amplo espectro, atingindo então não só bactérias responsáveis pela infecção a ser tratada, mas também outros tipos de microrganismos, participando então da eliminação da diversidade dos mesmos, e ajudando na desregulação do sistema imunológico, deixando o indivíduo mais suscetível a doenças (JERNBERG *et al.*, 2010).

Figura 2. Representação dos fatores ambientais que afetam a composição da microbiota intestinal.



Fonte: Adaptado de Sommer & Backhed (2013).



A idade também faz parte dos fatores que influenciam a microbiota intestinal, uma vez que, com o avanço da idade há maior necessidade de digerir os alimentos, visando compensar a diminuição da atividade do sistema digestório.

Embora pouco citada, a higiene também é um fator que pode contribuir para a alteração da microbiota. Ao contrário do que se possa pensar, o excesso dela, e a escassez a exposição de microrganismos na fase inicial da vida, pode influenciar negativamente o desenvolvimento do sistema imunológico, contribuindo na alteração da microbiota (BOERNER & SARVETNICK, 2011).

Estudos demonstram que *Bacteroides* e Firmicutes representam mais de 90% de todos os filotipos das bactérias. Mais de 90% da população bacteriana são anaeróbios estritos, sendo as espécies predominantes: *Bacteroidetes*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, entre outros.

3. SEQUENCIAMENTO DA MICROBIOTA INTESTINAL

A identificação da microbiota intestinal tem como alvo o gene 16S RNA Ribossômico, que também é utilizado de maneira ampla para em estudos de microbiologia ambiental, e de evolução molecular. Esse gene está presente em todas as bactérias e contém altamente conservadas que possibilitam o desenho de amplificadores e regiões hipervariáveis permitindo a identificação de características filogenéticas dos microrganismos, que são divididas entre V1 e V9.

A região V4 é a mais utilizada em estudos de diversidade microbiana por apresentar fielmente o perfil taxonômico das comunidades microbianas, quando comparado a caracterização usando a sequência completa do gene 16S.

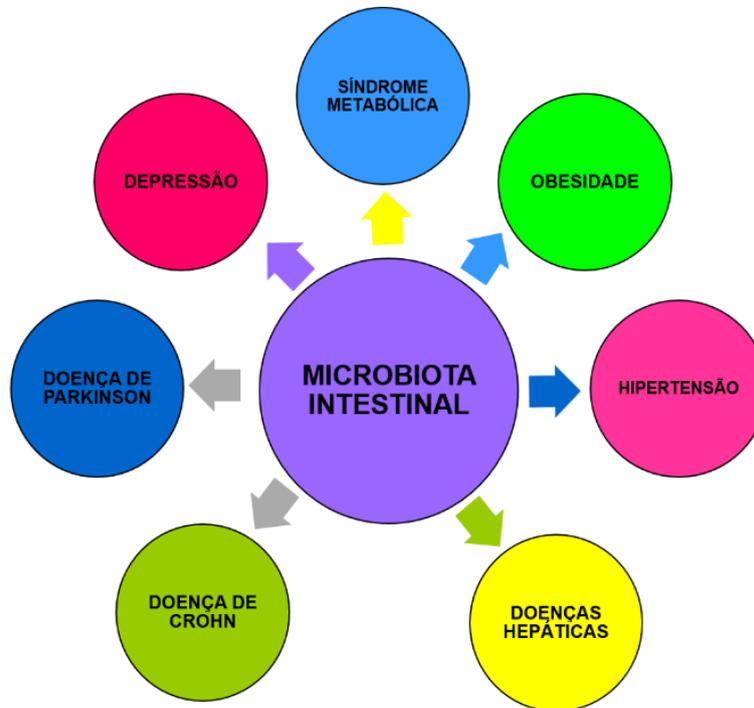
4. ALTERAÇÕES NA MICROBIOTA INTESTINAL E PATOLOGIAS

Sabe-se que em condições normais a microbiota intestinal é um ecossistema homeostático de funções vitais e inter-relações importantes para a saúde do hospedeiro. Sendo assim, o seu desequilíbrio pode resultar em disbiose, aumentando então o risco de patologias (Figura 3).

Acreditava-se que a disbiose intestinal era a responsável por doenças

gastrointestinais, porém estudos recentes comprovam que este desequilíbrio não é limitado apenas a estas patologias.

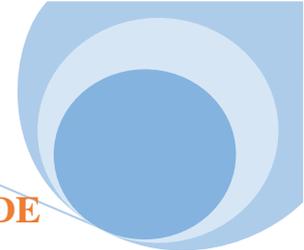
Figura 3. Evidências recentes indicam que a disbiose está relacionada com diversas patologias.



4.1. MICROBIOTA INTESTINAL X HIPERTENSÃO

A hipertensão é considerada um desafio a saúde global sendo o principal fator de risco para o acidente vascular cerebral, a principal causa de óbitos no mundo, além de ser responsável por distúrbios renais. A identificação das causas da hipertensão ainda é um desafio, uma vez que é amplamente conhecido que sua etiologia é multifatorial envolvendo então um conjunto de fatores endógenos e ambientais que contribuem para o seu desenvolvimento e progressão.

Recentemente um estudo brasileiro caracterizou amostras fecais de 48 indivíduos hipertensos e 32 normotensos por sequenciamento do gene 16S. O estudo identificou disbiose intestinal em indivíduos hipertensos, causada pela redução da diversidade bacteriana em comparação ao grupo normotenso. Além disto, observou-se também redução da espécie de *Bacteroidetes* e aumento de *Lactobacillus* e *Arkkemansia*. Resultados da dosagem de TNF/IFN- γ demonstraram um perfil imunológico inflamado em hipertensos, quando comparados aos normotensos.



4.2. MICROBIOTA INTESTINAL X DOENÇA DE PARKINSON

O desequilíbrio intestinal entre a flora benéfica e bactérias oportunistas causado pela disbiose da microbiota intestinal pode levar a distúrbios gastrointestinais, metabólicos e degenerativos, entre eles a doença de Parkinson.

Alguns autores sugerem que a cascata neurodegenerativa na doença pode começar no trato gastrointestinal devido a aumento da permeabilidade intestinal, inflamação e estresse oxidativo, podendo explicar a relação entre as alterações intestinais, como constipação observada em estágios iniciais da doença de Parkinson em pacientes ainda sem prejuízos em sinais motores característicos (HOUSER & TANSEY, 2017).

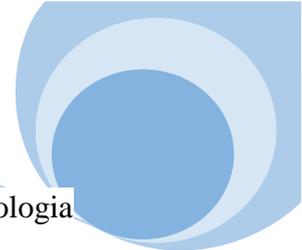
Estudos pioneiros comparando a microbiota de pacientes com doença de Parkinson com a de indivíduos saudáveis encontraram níveis mais elevados da espécie Enterobacteriaceae e menor prevalência de Prevotellaceae, esta responsável por manter as estruturas digestivas em condições ideais, através da produção de mucinas e ácidos graxos de cadeia curta.

Estudos comprovaram que a redução de Prevotellaceae altera a permeabilidade intestinal levando a exposição de endotoxinas bacterianas (SARKAR E BANERJEE, 2019). Sendo assim, estudos sugerem que manter a microbiota intestinal equilibrada poderia minimizar os processos patológicos da doença de Parkinson e até mesmo ser um fator preventivo.

4.3. MICROBIOTA INTESTINAL X DOENÇA DE CROHN

A doença de Crohn é definida por inflamação crônica do trato gastrointestinal associada a um aumento de citocinas inflamatórias, entre elas as interleucinas e fator de necrose tumoral TNF- α (TSUKUMO *et al.*, 2009).

A microbiota intestinal tem recebido mais atenção, reforçando a ideia de que a doença envolve interações complexas entre o sistema imunológico do hospedeiro, a mucosa e a microbiota intestinal. Estudos têm proposto que alterações na microbiota intestinal podem levar ao aumento de uma inflamação crônica.



Estudos sugerem que a disbiose intestinal pode contribuir para a patologia através da redução da biodiversidade intestinal através da redução de Firmicutes e *Bacteroidetes*, em contrapartida a um aumento de Enterobacteriaceae.

Estudo realizado demonstrou que crianças com doença de Crohn tinham um aumento na quantidade de Enterobacteriaceae e um decréscimo de *Bacteroidetes* (GEVERS *et al.*, 2014).

4.4. MICROBIOTA INTESTINAL X DOENÇA HEPÁTICA

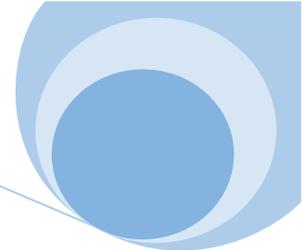
Sabe-se que a doença hepática crônica está aumentando em países ocidentais e a cirrose hepática é a 12^o causa de morte em todo o mundo. O aumento se deve em parte ao crescimento de casos de obesidade, um fator importante associado a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) e a esteato-hepatite (NASH).

A doença hepática gordurosa não alcoólica é caracterizada pelo acúmulo de triglicerídeos no fígado em indivíduos que não fazem uso de bebida alcoólica, incluindo um espectro de achados histopatológicos que podem variar do fígado gorduroso a esteato-hepatite não alcoólica (NASH), fibrose e cirrose, podendo evoluir para carcinoma hepatocelular.

Histologicamente o DHGNA é definido pela presença de esteatose hepática superior a 5% dos hepatócitos, independentemente de ser macrovesicular, mista ou microvesicular.

Estudos têm demonstrado uma ligação entre o aumento de *Enterococcus* com indução de inflamação hepática, via receptor de reconhecimento de patógeno – o Receptor *TollLike* tipo 2 (TLR2), e progressão da doença hepática. Fatores de virulência do *Enterococcus*, tais como gelatinase E27 pode facilitar a translocação bacteriana e contribuir para a doença hepática. *Enterococcus* também tem sido encontrado como causa de peritonite bacteriana espontânea em pacientes com doença hepática em estágio avançado. Em pacientes com cirrose, o risco de infecção bacteriana e suas complicações estão fortemente associadas com medicações de supressão ácida (DEVER & SHEIKH, 2015).

Um estudo demonstrou que pacientes com DHGNA apresentaram menor número de *Faecalibacterium* e *Anaerosporeobacter*, e aumento no número de *Parabacteroides* e *Alisonella* mostrando que pacientes com DHGNA apresentam disbiose e que alterações na microbiota podem se relacionar com a melhora da doença.



4.5. MICROBIOTA INTESTINAL X OBESIDADE

É fato que nos últimos anos a prevalência da obesidade aumentou em todo o mundo, e isto está relacionado a ingestão de alimentos ricos em calorias, estilo de vida sedentário e outros fatores que contribuem para menor gasto energético. Sabe-se que o desequilíbrio entre gasto energético e ingestão calórica é um fator importante que contribui para o desenvolvimento da obesidade.

Recentemente, vários estudos sugeriam atuação da microbiota intestinal no desenvolvimento da obesidade, uma vez que a flora intestinal pode alterar o armazenamento energético e de gordura, o que vem sendo confirmado através de estudos.

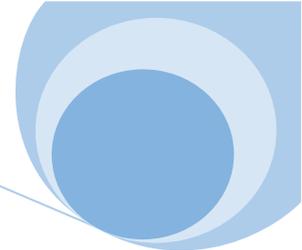
Um estudo experimental realizado com camundongos *germfree* mostrou que apesar destes ingerirem maior quantidade de alimentos quando comparado ao grupo convencional apresentaram maior quantidade de gordura (BECKHED *et al.*, 2004).

Turnbaugh *et al.*, (2007) demonstrou que camundongos livres de germes colonizados com a flora intestinal de camundongos obesos apresentaram aumento na gordura corporal em níveis maiores do que quando colonizados com a flora intestinal de animais magros. Este mesmo estudo demonstrou que a flora intestinal de camundongos obesos apresentava uma abundância de genes codificadores de enzimas capazes de digerir polissacarídeos da dieta que normalmente não é digerível pelo ser humano.

A correlação entre flora intestinal e obesidade ainda requer mais estudos para entender várias questões.

5. CONCLUSÃO

É fato que a microbiota intestinal vem se tornando cada vez mais importante e estudada como causa inicial de diversas patologias. É importante lembrar que cada indivíduo possui uma microbiota única, e que essa é tão importante quanto a digital de cada indivíduo. Acredita-se que com os anos muito se descubra sobre a microbiota, e que através dela sejam compreendidas as mais diversas patologias, tornando assim mais alcançável a sua compreensão



6. REFERÊNCIAS

CÂNDIDO A. L.; TUNON G. I. L.; CARNEIRO M. R. P. Microbiologia Geral. São Cristovão: Universidade Federal de Sergipe, CESAD, 2009. Disponível em: https://www.cesadufs.com.br/ORBI/public/uploadCatalogo/10295504042012Microbiologia_Geral_Aula_1.pdf. Acesso em: abril de 2020

DEVER J. B.; SHEIKH M. Y. Review article: spontaneous bacterial peritonitis-bacteriology, diagnosis, treatment, risk factors and prevention. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, v. 41, p.1116–1131, 2015.

GEVERS D.; *et al.* The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell host & microbe*, v. 15, n. 3, p. 382-392, 2014.

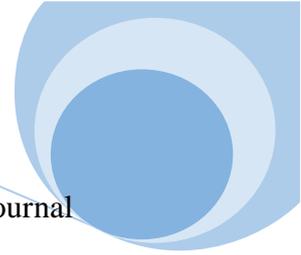
GRONLUND M. M.; *et al.* Development of intestinal bacterial enzymes in infants-relationship to mode of delivery and type of feeding. *Journal of Pathology, Microbiology and Immunology*, v. 107, p. 7-12, 1999.

HOUSER M. C.; TANSEY M. G. The gut-brain axis: is intestinal inflammation a silent driver of Parkinson's disease pathogenesis? *NPJ Parkinson's disease*, v. 3, n. 1, p. 1-9, 2017.

JERNBERG C.; *et al.* Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology*, v. 156, n. 11, p. 3216-3223, 2010.

KONTUREK P. C.; *et al.* Papel emergente da microbiota fecal no tratamento de doenças gastrointestinais e extra-gastrointestinais. *Journal Physiology Pharmacology*, v. 66, n. 4, p. 483-491, 2015.

LESER T. D.; MOLBAK L. Better living through microbial action: the benefits of the mammalian gastrointestinal microbiota on the host. *Environmental Microbiology*, v. 11, n. 9, p. 2194-2206, 2009.



SARKAR S. R.; BANERJEE S. Gut microbiota in neurodegenerative disorders. *Journal of Neuroimmunology*, v. 328, p. 98-104, 2019.

SEKIROV I.; *et al.* Gut microbiota in health and disease. *Physiological Reviews*, v. 90, n. 3, p. 859-904, 2010.

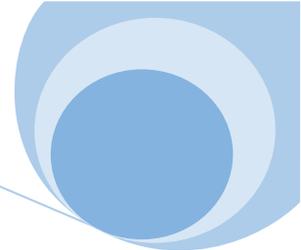
SOMMER F.; BÄCKHED F. The gut microbiota—masters of host development and physiology. *Nature Reviews Microbiology*, v. 11, n. 4, p. 227-238, 2013.

SUAU A.; *et al.* Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 65, n. 11, p. 4799-4807, 1999.

TSUKUMO D. M.; *et al.* Translational research into gut microbiota: new horizons in obesity treatment. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, v. 53, n. 2, p. 139-144, 2009.

TURNBAUGH P. J.; *et al.* The human microbiome project. *Nature*, v. 449, n. 7164, p. 804-810, 2007.

WOLOWCZUK I.; *et al.* Feeding our immune system: impact on metabolism. *Clinical and Developmental Immunology*, v. 2008, 2008.



Capítulo 12

A EDUCAÇÃO EM SAÚDE COMO FERRAMENTA PARA A PROMOÇÃO DE SAÚDE EM PORTADORES DE DIABETES ATENDIDOS NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UFTM

Leonardo F Da Silva¹, Alessandra M De Souza¹, Camila V Ferreira¹,
Cintia C Andrade¹, Daniela V Giacone¹, Eliene M De Lira¹, Jaciara TA Alvarenga¹,
Josiane F Dos Santos¹, Luciana D Marques¹, Nayla C Vitoi¹, Patrícia N Da Silva¹,
Thiago O Santos¹

¹Programa de Residência Multiprofissional em Saúde do Adulto, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba/MG.

1. INTRODUÇÃO

O Diabetes *Mellitus* (DM) compreende uma doença endócrino-metabólica de etiologia heterogênea, com o envolvimento de fatores biológicos, genéticos e ambientais, que apresenta um quadro em comum de hiperglicemia, gerada por deficiência na produção ou ação da insulina. Suas consequências são as mais diversas possíveis, com diversos graus de complicações como cetoacidose, retinopatia, nefropatia, neuropatia e até doença arterial coronariana. (BRASIL, 2019).

Atualmente o DM é reconhecido pela Federação Internacional de Diabetes (IDF), pela Organização das Nações Unidas (ONU) e pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma doença crônica não transmissível de grande incidência e prevalência populacional. Segundo estimativas da IDF em 2017, 8,8% da população mundial entre 20 a 79 anos de idade viviam com DM e a projeção que estes números superem a marca de 628,6 milhões de pessoas em 2045. Cerca de 80% dos casos vivem em países em desenvolvimento, nos quais deverá ocorrer o maior aumento dos casos de diabetes nas próximas décadas (BRASIL, 2019).

O aumento da prevalência do diabetes está associado a diversos fatores, como rápida urbanização, transição epidemiológica, transição nutricional, maior frequência de estilo de vida sedentário, maior frequência de excesso de peso, crescimento e envelhecimento populacional e, também, à maior sobrevivência dos indivíduos com diabetes. (BRASIL, 2019, p.12).

Os maiores investimentos são principalmente devido às complicações crônicas, como diálise nas nefropatias, deficiência visual decorrente da retinopatia, doenças cérebro-cardiovasculares, úlceras nos pés e amputações de causa não traumáticas em membros inferiores decorrentes da neuropatia e doença arterial periférica (BRASIL, 2019; NEVES *et al.*, 2014).

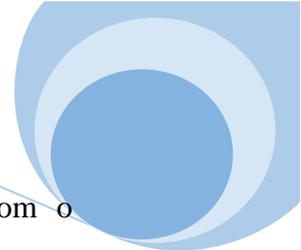
Somam-se a esses custos, os enormes prejuízos para as economias regionais causados pelo absenteísmo, diminuição de produtividade e deficiências permanentes e incapacitantes de parcela da população economicamente ativa (LIMA *et al.*, 2011).

As úlceras neuropáticas nas quais encontramos a perda da sensibilidade protetora, muitas dessas decorrentes de calçados inadequados ou traumas não percebidos; representam a maioria da úlcera em pé diabético e podem apresentar concomitantemente, alterações biomecânicas e/ou ortopédicas, incluindo algumas deformidades dos pés, como exemplo calosidades plantares, dedos em garra, etc. (LIMA *et al.*, 2014).

A cada ano, aproximadamente 484.500 doentes desenvolvem síndrome do pé diabético; 169 mil requerem internação hospitalar secundária a esta complicação, 46.300 pacientes são amputados anualmente no Brasil em decorrência do pé diabético e 12400 chegam a êxito letal devido as complicações (LIMA *et al.*, 2011).

O controle eficaz dos fatores de risco ou comorbidades relacionadas ao DM pode prevenir ou pelo menos retardar a evolução da doença cardiovascular nesse grupo de indivíduos. Para tanto, sugere-se que sejam realizadas modificações no estilo de vida, como o consumo de alimentação saudável, a prática regular de exercícios físicos e também a cessação do tabagismo. Ainda merecem destaque na prevenção da doença cardiovascular em diabéticos o manejo da Pressão Arterial (PA), da dislipidemia e do monitoramento do pé diabético, evitando dessa forma o aparecimento de fatores secundários associados ao diabetes (FORTI, 2019; BRASIL, 2014).

Neste sentido, a equipe de saúde tem papel fundamental no processo de educação e prevenção dos pacientes diabéticos, especificamente na prevenção de complicações nos pés, dos portadores de DM. Deve-se realizar um exame criterioso dos



pés baseando-se nas características individuais identificadas e, juntamente com o paciente, planejar ações que sejam eficazes e cabíveis a cada um. Dessa forma, o desenvolvimento de um programa de atendimento a estes pacientes reduz às amputações e complicações da maioria das úlceras diabéticas que podem ser prevenidas através de cuidados com os pés. A atenção diária garante que, em caso de complicações, elas sejam detectadas antes de se tornarem graves. Podem demandar tempo e esforço o estabelecimento de bons hábitos de cuidado com os pés, porém o incentivo do autocuidado é essencial. (NEVES *et al.*, 2014; ABBADE, 2010).

O cuidado com os pés é um processo vital na etapa de tratamento. Muitos fatores de risco para ulceração/amputação podem ser descobertos com o exame cuidadoso com os pés como grau de aderência do paciente e familiares, bem como estado nutricional, imunológico e comorbidades (BRASIL, 2014).

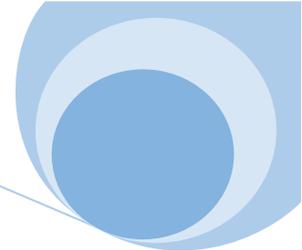
A educação em saúde se configura como uma estratégia para a promoção da saúde, com o objetivo social de contribuir para a formação da consciência crítica das pessoas sobre os seus problemas de saúde e a busca pela autonomia com relação ao seu cuidado. A finalidade do processo de Educação em Saúde é a transformação. Através do mesmo, é possível melhorar e buscar mudanças nas realidades da população quanto a sua saúde.

A educação em saúde também tem um papel de desmistificar tabus, preconceitos e “*fake news*” com assuntos relacionados a saúde, trazendo conceitos, evidências e atualizações de caráter técnico/científico, sempre respeitando o contexto cultural e religioso da comunidade a ser tratada durante a educação em saúde.

Este artigo descreve a experiência positiva da prática da educação em saúde, buscando proporcionar um atendimento multiprofissional e uma constante estimulação do usuário sobre o empoderamento e corresponsabilidade acerca de sua saúde.

2. MÉTODOS

Esta é a descrição do relato da experiência durante o período de realização do processo de educação em saúde em sala de espera, realizada pelos residentes multiprofissionais no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (HC/UFTM) no município de Uberaba/MG.



CONTEXTO DA INTERVENÇÃO

O Hospital de Clínicas da UFTM compõe a macrorregião do Triângulo Sul do Estado de Minas Gerais, sendo o único hospital que oferece atendimento de alta complexidade; integralmente pelo Sistema Único de Saúde – SUS; em uma macrorregião composta por 27 municípios. Responsável também pelos atendimentos a pacientes de outras regiões do estado e diversos estados do Brasil.

O Núcleo de atendimento de Pé Diabético da UFTM está inserido dentro do complexo ambulatorial do HC/UFTM. Os pacientes diabéticos são avaliados quanto ao perfil endocrinológico e nutricional e a existência de feridas decorrente da presença do diabetes. Os atendimentos são realizados semanalmente no Ambulatório Maria da Glória do HC/UFTM.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

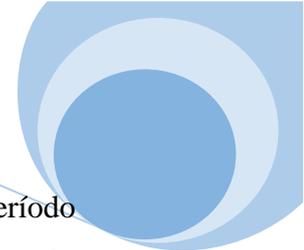
Entre março de 2018 a fevereiro de 2019 foram realizados atendimentos ambulatoriais semanalmente no Ambulatório Maria da Glória do HC/UFTM, pelos residentes da equipe multiprofissional (Figura 1). Foram atendidos pacientes de ambos os sexos, encaminhados pela equipe médica, pela Unidade Básica de Saúde (UBS), setores de internação do HC/UFTM, bem como àqueles em demanda espontânea.

A equipe multiprofissional em Saúde do Adulto contou com a presença profissional de uma assistente social, dois biomédicos, quatro enfermeiras, dois fisioterapeutas, duas nutricionistas e duas psicólogas.

O atendimento individual foi realizado pelas enfermeiras residentes, que foram responsáveis pela avaliação das feridas e realização dos curativos; enquanto o restante da equipe multiprofissional realizava a educação em saúde com pacientes na sala de espera, atividades socioeducativas no contexto da saúde e escuta ativa.

Todas as atividades realizadas com os usuários foram propostas através de métodos simples e de baixo custo e ao mesmo tempo lúdicos e motivacionais, respeitando as limitações de cada um e de forma que prendesse a atenção dos usuários em relação às temáticas.

As feridas crônicas que podem surgir como complicações de complexas patologias subjacentes, como o diabetes, podem ser definidas como um processo de



cicatrização comprometido, com perda de solução de continuidade em um período superior a 3 meses. (LIMA *et al.*, 2011; IPOEMA & COSTA, 2011). Caracterizado como grave problema de saúde pública, as feridas crônicas, como as úlceras em membros inferiores, afetam grande parcela da população, acometendo principalmente adultos e idosos. Dessa forma interferem nos índices de morbimortalidade, uma vez que produzem alterações crônicas na integridade da pele, ocasionando assim incapacitação e ou amputação de membros inferiores desses indivíduos (IPOEMA & COSTA, 2011; ABBADE, 2010).

O diagnóstico e o tratamento adequados são essenciais para o cuidado de usuários com feridas crônicas, proporcionando maior rapidez da cicatrização e prevenção de recorrências (ARAÚJO *et al.*, 2003).

Pelo fato de existir uma complexidade a ser considerada no cuidado ao paciente diabético, há necessidade da integração da equipe interdisciplinar no atendimento do paciente. Os profissionais devem considerar a integralidade do cuidado considerando que a lesão pode interferir na qualidade de vida, autoestima e prejudicar o estado emocional dos pacientes (OLIVEIRA & MATOS, 2010; WAIDMAN *et al.*, 2011). É necessário considerar a importância da equipe multidisciplinar, combinando conhecimentos em prol do objetivo maior, que é o tratamento adequado do paciente e sua cura (NEVES *et al.*, 2014).

Os temas iniciais das salas de espera foram definidos pela equipe, baseado em assuntos que se mostraram importantes no contexto de cuidado e realidade dos usuários, mas com o desenvolvimento do projeto, a temática de cada sala de espera e intervenção foi sendo ajustada e configurada conforme as sugestões dos próprios usuários quanto a novos temas e novas abordagens, buscando sempre melhorar o processo de educação em saúde com eles. As temáticas das salas de espera e intervenções variaram desde cuidados básicos com o pé diabético, controle da glicemia, orientações nutricionais e até mesmo outros temas de saúde como a importância da imunização, da doação de sangue e Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST's) na terceira idade.

Figura 1. Orientações dadas aos usuários frequentadores do Ambulatório Maria da Glória (HC/UFTM).

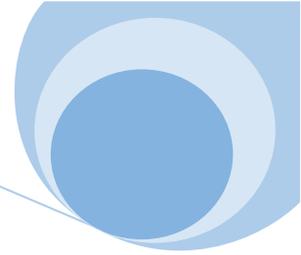


Fonte: Arquivo dos Pesquisadores, 2018.

Todo o processo se mostrou bastante importante e de uma experiência transformadora. Através do mesmo foi possível a troca de experiências entre os residentes e os usuários e juntos buscarem por uma melhor qualidade de vida e redução de possíveis complicações. Os usuários se mostraram bastante satisfeitos com o processo de evolução realizado.

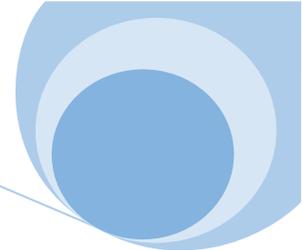
Neste processo, o Biomédico se apresenta como um profissional capaz de contribuir bastante dentro de uma equipe multiprofissional, por todo o seu conhecimento quanto a anatomia, fisiopatologia e alterações dentro dos inúmeros processos do organismo humano e toda a sua capacidade técnico/científica na interpretação dos achados clinico-laboratorial. A vivência do biomédico dentro no contexto de atenção primária é algo novo para a profissão e é importante o fortalecimento desse profissional dentro de um ambiente onde o mesmo têm uma grande capacidade de contribuição.

O caráter extensionista do projeto permite atender ao objetivo de educação em serviço proposto pela residência indo de encontro também aos anseios da graduação, os quais se relacionam com a prática assistencial. Neste contexto, o impacto das ações desenvolvidas para a equipe executora se resume em uma formação profissional de qualidade, resolutiva a qual busca soluções para as problemáticas apresentadas pelos usuários.



4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho demonstra, portanto, a importância de atividades de sala de espera como estratégia de educação e promoção à saúde visando o protagonismo, corresponsabilidade e autonomia dos sujeitos quando ao seu cuidado, como estabelece os princípios da Política Nacional de Humanização. O projeto colabora com a formação da equipe no sentido de exigir do residente uma prática com respaldo técnico/científico, que busca as melhores evidências para assistir o usuário. Diante disso o mesmo exige atualização contínua do conhecimento.



5. REFERÊNCIAS

ABBADE L. P. F. Diagnósticos diferenciais de úlceras crônicas em membros inferiores. In: MALAGUTTI, W; organizadores. Curativo, ostomias e dermatologia: uma abordagem multiprofissional. São Paulo: Martinari, p. 77-93, 2010.

ARAÚJO T.; *et al.* Managing the patient with venous ulcers. *Annals of Internal Medicine*, v. 138, n. 4, p. 326-34, 2003.

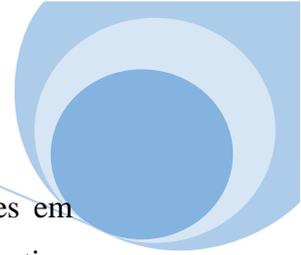
BRASIL. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Diabetes *Mellitus* Tipo 1. Brasília: Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: [http://conitec.gov.br/images/Consultas/Relatorios/2019/Relatrio Diabetes-Mellitus - Tipo-1 CP 51 2019.pdf](http://conitec.gov.br/images/Consultas/Relatorios/2019/Relatrio_Diabetes-Mellitus_-_Tipo-1_CP_51_2019.pdf). Acesso em 02 mar. 2020.

BRASIL. SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretrizes da SBD 2014-2015. Diagnóstico Precoce do Pé Diabético 2014 – 2015. Disponível em: <https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/pdf/diabetes-tipo-2/019-Diretrizes-SBD-Diagnostico-Pe-Diabetico-pg179.pdf>. Acesso em 02 mar. 2020.

FORTI A. C.; *et al.* Diretrizes Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020. Clannad, 2019. Disponível em: <https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/DIRETRIZES-COMPLETA-2019-2020.pdf>. Acesso em 02 mar. 2020.

IPOEMA E.; COSTA M. M. Úlceras vasculogênicas. In: FIGUEIREDO N. M. A.; *et al.* Feridas: fundamentos e atualizações de enfermagem. São Caetano do Sul: Yendis, v. 3, 2011.

LIMA A. L. M.; *et al.* Directrices pan-americanas para el tratamiento de infecciones en úlceras neuropáticas de las extremidades inferiores. *Revista Paramericana de Infectologia*, v. 13, n. 1, 2011.

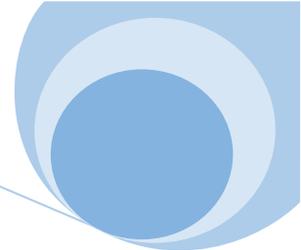


LIMA A. L. L. M.; *et al.* Diretrizes Brasileiras para o tratamento das infecções em Úlceras neuropáticas dos Membros inferiores. *The Brazilian Journal of Infection Disease*, v. 14, n. 1, p. 11-71, 2014.

NEVES J. S.; *et al.* Atuação multiprofissional na construção de grupo operativo envolvendo pacientes com lesão de membros inferiores. *Revista Norte Mineira de Enfermagem*, v. 3, n. 1, p. 86-95, 2014.

OLIVEIRA A. S.; MATOS J. C. Úlcera venosa de membros inferiores. *UNINGÁ Review*, v. 4, n. 4, p. 57-6711, 2010.

WIDMAN M. A. P.; *et al.* O cotidiano do indivíduo com ferida crônica e sua saúde mental. *Texto Contexto Enfermagem*, v. 20, n. 4, p. 691-9, 2011.



Capítulo 13

MODELAGEM E IMPRESSÃO 3D DE MODELOS ANATÔMICOS PARA O ENSINO DE ANATOMIA EM CURSOS DE GRADUAÇÃO

Luiz E Lisboa¹, Camila De M Ribas², Carolina P Arce³, José A Foggiatto⁴, Márcio H De S Carboni⁵, Marcello Machado⁶, Maria FP Torres⁶

¹Acadêmico do Curso de Biomedicina, Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR.

²Acadêmica do Curso de Expressão Gráfica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR.

³Acadêmica do Curso Técnico Integrado em Mecânica, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba/PR.

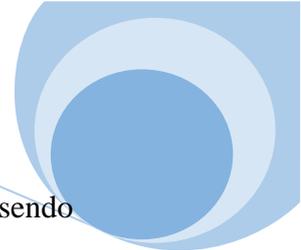
⁴Docente do Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba/PR.

⁵Docente do Departamento de Expressão Gráfica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR.

⁶Docente do Departamento de Anatomia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR.

1. INTRODUÇÃO

A integração entre ciência biomédica e tecnologia vem contribuindo para o esclarecimento de pacientes acerca de suas enfermidades e para a formação de profissionais da saúde. Desde o surgimento da tecnologia de manufatura aditiva (MA) ou impressão tridimensional (3D) nos anos 1980, é crescente o seu uso para o planejamento de abordagens cirúrgicas graças à disponibilidade de equipamentos e à possibilidade de reproduzir modelos paciente-específicos. No que diz respeito ao ensino, modelos produzidos por MA a partir de estruturas anatômicas saudáveis ou alteradas tem sido utilizados como alternativas didáticas (GARCIA *et al.*, 2018). Estes também são recursos importantes para a representação de alterações morfológicas, uma vez que modelos produzidos a partir de imagens com alterações patológicas podem ser usados para confecção de acervos físicos de exemplos clínicos (NETO, 2016).



A impressão 3D é uma tecnologia em constante evolução que vem sendo utilizada para a produção de modelos realísticos com fidelidade anatômica útil para a formação de estudantes e para o desenvolvimento de habilidades dos profissionais da saúde (LAU *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2017).

Na prática pedagógica, a impressão 3D tem sido considerada um recurso valioso para a criação de modelos didáticos realísticos (LAU *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2017) e, com isso, tem facilitado o processo ensino-aprendizagem em anatomia (NIBBLETT *et al.*, 2017). Modelos físicos podem auxiliar discentes na compreensão espacial de fenômenos variados e, conseqüentemente, aumentar o seu envolvimento em aulas. Tais modelos permitem uma linguagem adequada ao aprendizado, capaz de facilitar e racionalizar o pensamento do aprendiz, de forma a substituir uma visão ingênua da realidade por uma postura mais crítica e abrangente (BASSANEZI, 2015).

Durante séculos, o ensino da anatomia foi baseado em dissecação de material cadavérico. Por diversas razões, entre elas a disponibilidade de material e a preocupação ética, algumas escolas têm substituído material cadavérico úmido por plastinado, modelos sintéticos e recursos digitais. Inquestionavelmente, o ensino da anatomia é baseado em materiais físicos representados, na maioria das vezes, por cadáveres frescos ou fixados (SCHOENFELD-TACHER *et al.*, 2017). Entretanto, estudos indicam que a inclusão de ferramentas 3D pode melhorar a retenção do conteúdo da anatomia (PATEL & MOXHAM, 2008; PETERSON & MLYNARCZYK, 2016).

Na prática médica, a impressão 3D vem transformando o cenário de maneira semelhante, pois além de permitir a confecção de próteses e órteses, possibilita a conversão rápida de imagens anatômicas em objetos físicos que podem ser utilizados como recursos adjuvantes no processo de consentimento pré-operatório do paciente, permitindo melhor compreensão sobre a sua condição e maior envolvimento nas decisões e tratamento (MALIK *et al.*, 2015).

A impressão 3D utiliza dados tridimensionais para a produção de um objeto físico mediante a deposição sucessiva de material (BAUERMEISTER; ZURIARRAIN & NEWMAN, 2016; RENGIER *et al.*, 2010). A Manufatura Aditiva consiste no processo de fabricação de objetos tridimensionais a partir de dados de um modelo virtual CAD, através da deposição de camadas que vão sendo fabricadas sucessivamente até que se obtenha a geometria completa da peça (GO & HART, 2016; VIOLANTE & VEZZETTI, 2017; HAAVI; TVENGE & MARTINSEN, 2018; STERN *et al.*, 2019).



Neste contexto o procedimento pode ser sintetizado em 3 passos: (1) aquisição da imagem, (2) pós-processamento da imagem, e (3) impressão 3D (NIBBLETT *et al.*, 2017).

A aquisição da imagem é um passo muito importante, pois a qualidade do objeto produzido depende da qualidade dos dados. Os dados podem ser obtidos tanto por tomografia computadorizada (TC) quanto por ressonância magnética (RM) em formato DICOM (*Digital Imaging and Communications in Medicine*), no entanto, o processamento da imagem obtida por TC realizado por um programa de reconstrução 3D é menos complexo (RENGIER *et al.*, 2010).

O pós-processamento da imagem ou reconstrução 3D consiste em processar as imagens DICOM em *softwares* específicos que transformam as diversas imagens bidimensionais (representadas em tons de cinza) da região de interesse em uma malha 3D formada por minúsculos triângulos. O *software* de reconstrução 3D deve ser capaz de destacar a região de interesse eliminando áreas indesejadas, bem como exportar o modelo tridimensional em um formato de arquivo 3D aceito universalmente como STL (*Stereolithography*) para ser reconhecido pelas impressoras 3D (RENGIER *et al.*, 2010; CHAE *et al.*, 2015).

Há uma série de tecnologias para MA e algumas delas vêm sendo exploradas na área médica: estereolitografia (SLA), *multijet modeling* (MJM), *selective laser sintering* (SLS), *binder jetting* e modelagem por deposição e fusão (FDM). Dessas, as tecnologias SLS e SLA imprimem peças com maior precisão e confiabilidade anatômicas (RENGIER *et al.*, 2010; CHAE *et al.*, 2015).

O objetivo deste estudo foi imprimir modelos anatômicos em 3D de intestino grosso e de ossos do membro superior humanos com características anatômicas relevantes para o ensino da anatomia para estudantes, como também para o esclarecimento de pacientes acometidos por doenças colorretais ou esqueléticas.

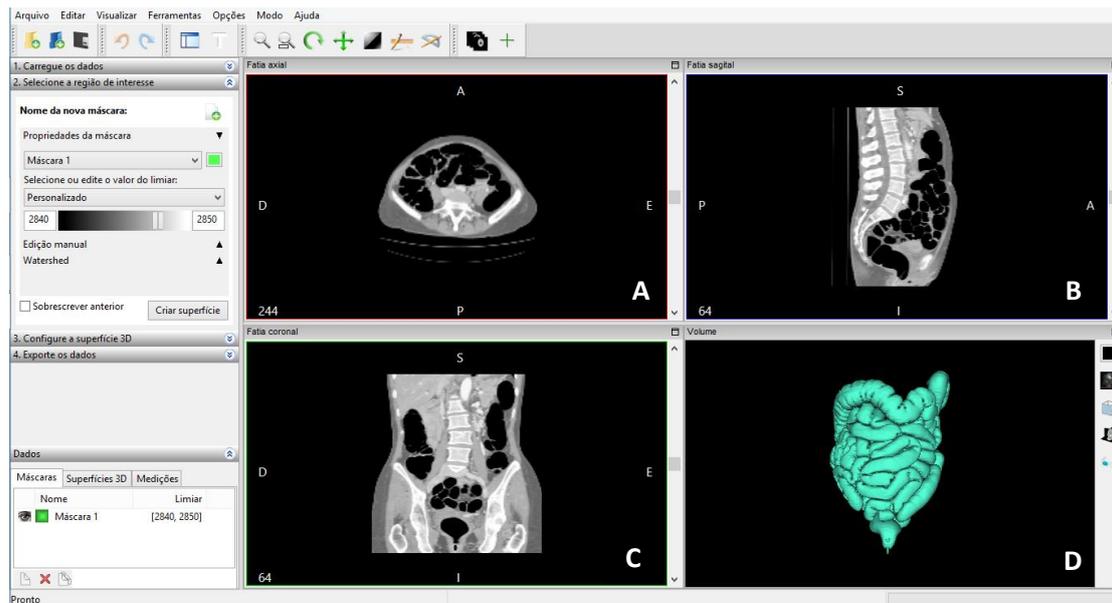
2. MATERIAIS E MÉTODOS

MODELO DE INTESTINO GROSSO

Foi utilizada uma tomografia computadorizada de paciente do sexo feminino, obtida no repositório *online* de imagens médicas, Medical Volume Explorer (<http://www.mve.info/>). O arquivo DICOM foi importado para o software

InVesalius[®]3.1., com o qual foi selecionada a densidade correspondente ao tecido do intestino grosso (IG) a fim de delimitar o segmento colorretal para renderização e obtenção de arquivo stl. (Figura 1).

Figura 1. Interface do programa InVesalius[®] com imagens tomográficas de abdome em secções transversal (A), sagital (B) e coronal (C) e imagem renderizada de intestino (D).



Fonte: Interface do programa *InVesalius*[®]

As regiões de interesse foram selecionadas a partir da densidade desejada e editadas para a correção de eventuais imperfeições e falhas da geometria no programa MeshMixer 3.0 da Autodesk[®] Inc. para a geração dos modelos 3D imprimíveis (Figura 2).

O modelo foi impresso em ácido polilático (PLA) na impressora 3D Cloner DH+ (Schumacher Inc.) com tecnologia de impressão por extrusão de material pertencente ao Departamento de Expressão Gráfica da Universidade Federal do Paraná. Buscou-se posicionar o modelo em relação à base da impressora de uma maneira que fosse necessário o mínimo possível de estruturas de suporte (Figura 3), e foram necessárias 9 horas para o término da impressão.

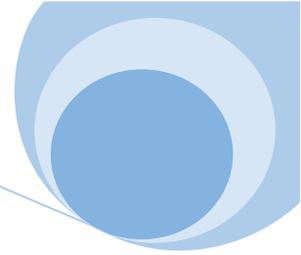
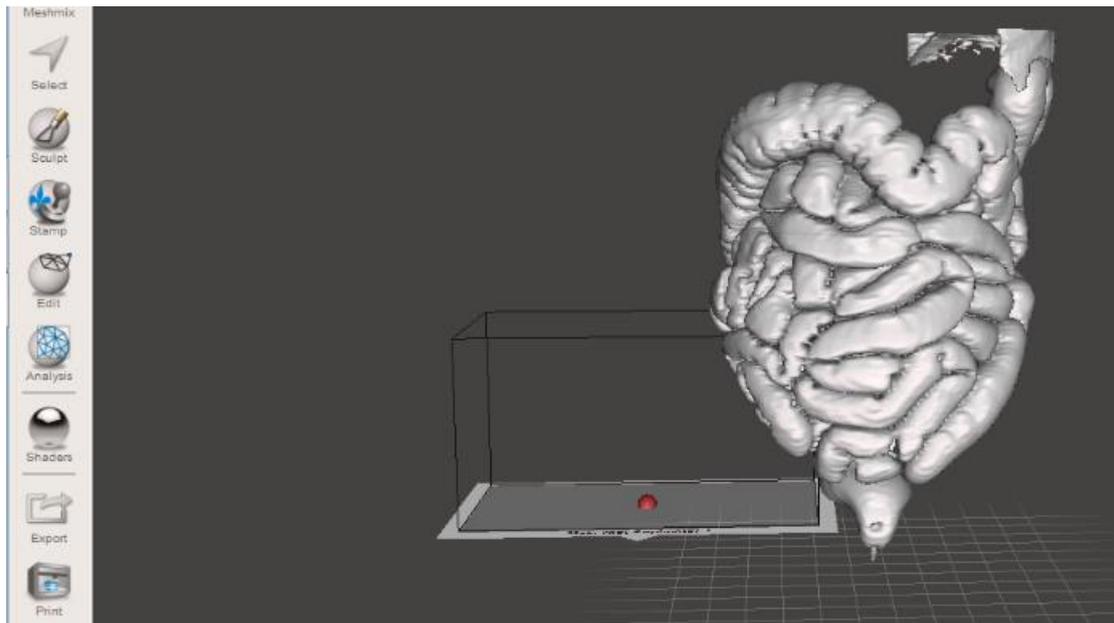
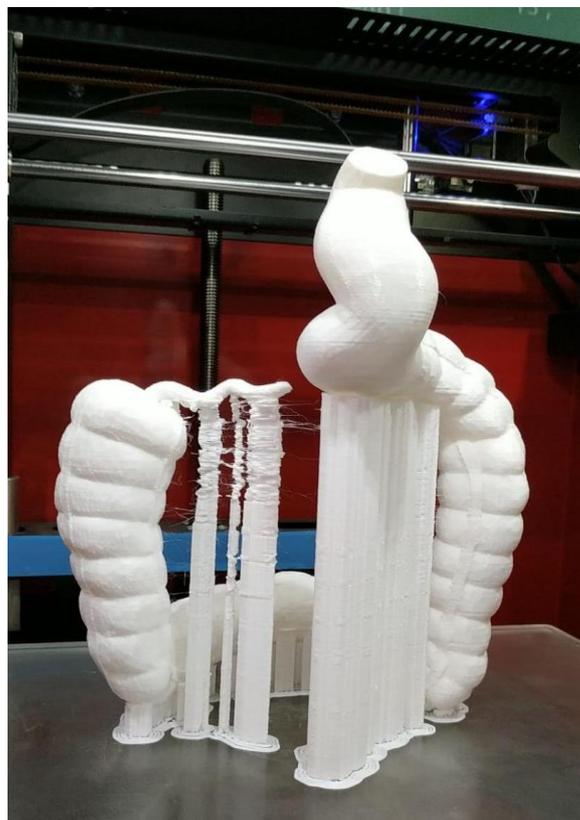


Figura 2. Imagem de segmento de intestino corrigido no *software* MeshMixer®.

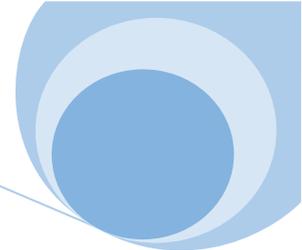


Fonte: *Software* MeshMixer®.

Figura3. Modelo de intestino grosso impresso em PLA com material de suporte.



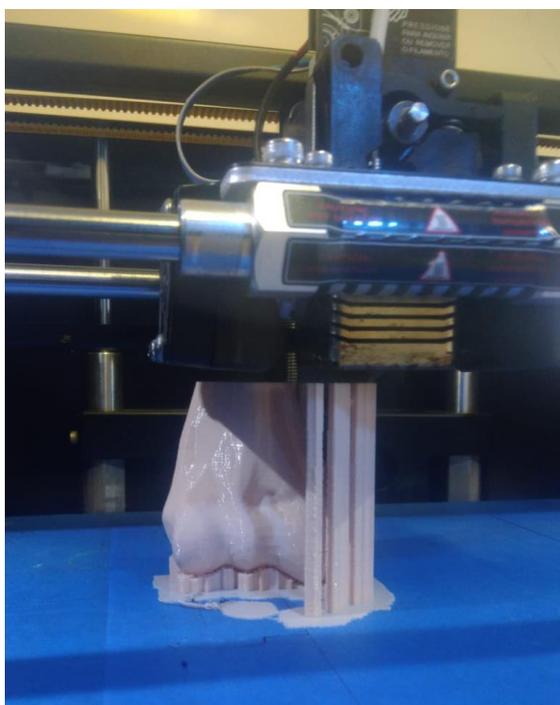
Fonte: Impressora 3D Cloner DH+.



MODELOS DE OSSOS

Os arquivos stl. foram obtidos no banco de imagens do Núcleo de Manufatura Aditiva e Ferramental (NUFER) do Departamento de Engenharia Mecânica da UTFPR. Os modelos foram impressos em PLA, e em camadas de 0,3mm na impressora 3D Cloner DH+ (Schumacher Inc.) com tecnologia de impressão por extrusão de material (FDM) pertencente ao NUFER (Figura 4).

Figura 4. Modelo de úmero sendo impresso em PLA em impressora 3D Cloner DH+.

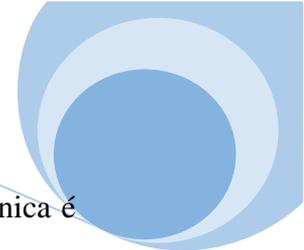


Fonte: Impressora 3D Cloner DH+.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os recursos para o ensino de anatomia podem ser citados, do mais autêntico ao menos realista: cadáveres, peças plastinadas, modelos 3D impressos e simulações computadorizadas (KHALIL; MANSOUR & WILHITE, 2010).

Materiais plastinados são secos, não possuem odor desagradável e não requerem estocagem em ambientes com ventilação especial ou câmaras de resfriamento (SCHOENFELD-TACHER *et al.*, 2017). Embora o uso de peças plastinadas seja aceito



como alternativa à dissecação, o material é proveniente de tecidos animais, a técnica é demorada, onerosa e requer reposição periódica quando usado regularmente, em contraste com modelos produzidos com polímeros sintéticos, que podem ser reproduzidos rapidamente e com baixo custo, após investimento adequado em uma impressora 3D (SCHOENFELD-TACHER *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2018).

A utilização de modelos 3D no ensino de anatomia apresenta várias vantagens sobre os materiais convencionais, inclusive sobre os plastinados. Tais vantagens incluem menor custo ao longo do tempo, facilidade de produção, redução do uso de animais e durabilidade (SCHOENFELD-TACHER *et al.*, 2017). Somando-se a isto, foi demonstrado que modelos impressos em 3D também são efetivos no desenvolvimento da percepção espacial dos estudantes e, conseqüentemente, contribuem efetivamente para o entendimento anatômico, requerido para o desenvolvimento de habilidades clínicas (BOYD; CLARKSON & MATHER, 2015). Nesse sentido, as possibilidades da utilização de modelos 3D no ensino das ciências médicas vêm sendo ampliadas na medida em que se pretende ensinar anatomia aplicada com maior praticidade, valendo-se das vantagens proporcionadas pela tecnologia de impressão 3D. Recentemente foi demonstrado que é possível produzir imagens radiográficas confiáveis a partir de modelos 3D que mimetizam fraturas ósseas em mandíbula canina, o que indica que as imagens produzidas são uma possível fonte alternativa de material educacional (LIMA *et al.*, 2019).

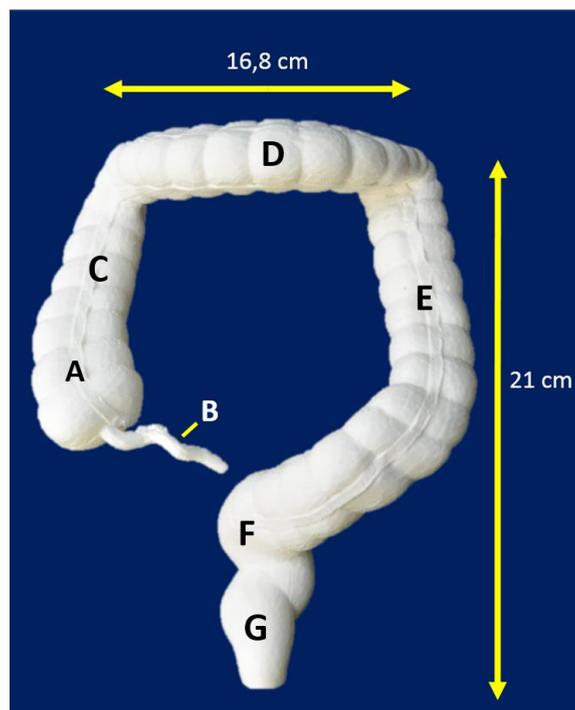
Enquanto simulações computadorizadas oferecem a perspectiva bidimensional de uma estrutura 3D, a réplica da anatomia permite interação sensorial tátil e visual melhorando a compreensão de condições anatômicas normais e patológicas.

MODELO DE INTESTINO GROSSO (IG)

Foi obtido um protótipo de IG medindo 16,5cm no sentido latero-lateral, 23cm no sentido craniocaudal e 11cm no sentido dorsoventral. A anatomia macroscópica foi adequadamente representada nos segmentos do ceco, apêndice vermiforme, cólon, reto e canal anal. O apêndice vermiforme apresentou-se preso à superfície pósteromedial do ceco. Os segmentos ascendente, transversal e descendente do cólon foram bem delimitados pelas flexuras direita e esquerda e podem ser observadas tênias e haustros

em toda a sua extensão. A inclinação do cólon sigmoide demonstra a sua posição intraperitoneal e segue no sentido pósterio-inferior com o reto.

Figura 5. Modelo de intestino grosso impresso em PLA em impressora 3D Cloner DH+ apresentando (a) ceco; (b) apêndice vermiforme; (c) cólon ascendente; (d) cólon transverso; (e) cólon descendente; (f) cólon sigmoide; (g) reto.

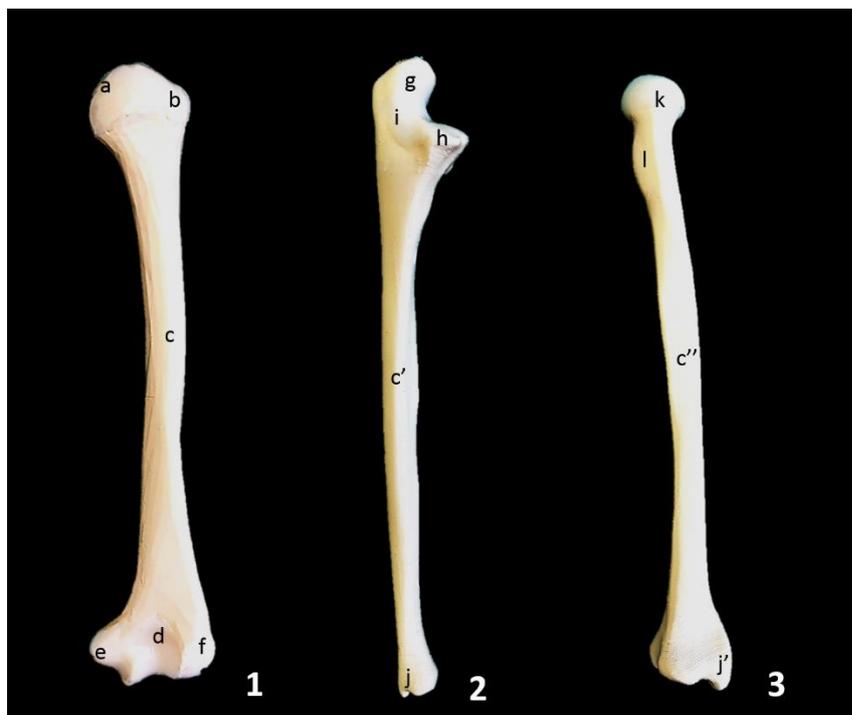


O modelo 3D de IG impresso em PLA apresentou características anatômicas satisfatórias para o ensino tanto de estudantes de anatomia quanto para o esclarecimento de pacientes acerca de condições patológicas que acometem o intestino grosso.

MODELOS DE OSSOS

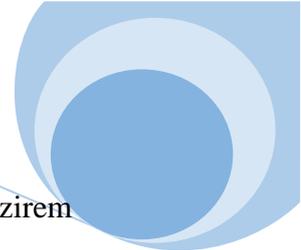
Os modelos fabricados neste estudo foram impressos em PLA em função da acessibilidade ao material e ao processo de impressão por extrusão. É possível observar elementos anatômicos considerados básicos pelos docentes no ensino de osteologia (Figura 6).

Figura 6. Ossos de membro superior impressos em PLA em impressora 3D Cloner DH+: (1) úmero; (2) ulna e (3) rádio. São identificados (a) cabeça do úmero; (b) tubérculo maior; (c, c', c'') diáfise; (d) fossa do olecrano; (e) epicôndilo medial; (f) epicôndilo lateral; (g) olecrano; (h) processo coronoide; (i) incisura do rádio; (j, j') processos estiloides; (k) cabeça do rádio; (l) tuberosidade do rádio.



A tecnologia por extrusão de material é a mais comum e acessível e consiste em um bico calibrado que se move nos eixos x-y e deposita um filamento fundido de termoplástico sobre uma plataforma, que se move em z, onde é solidificado. Após cada camada adicionada, a plataforma desce o valor de uma espessura de camada e o processo se repete até que o produto seja concluído. Os materiais mais utilizados são o acrilonitrila-butadieno-estireno (ABS) e o ácido polilático (PLA). A maior limitação do seu uso para a impressão de estruturas anatômicas complexas é a quantidade de material de suporte cuja remoção pode comprometer o acabamento do protótipo (CHAE *et al.*, 2015).

Essas impressoras vêm sendo amplamente utilizadas apesar da baixa resolução e confiabilidade anatômica, pois permitem a interação física com representações da anatomia por estudantes, cirurgiões e leigos. Por outro lado, as tecnologias SLS e SLA



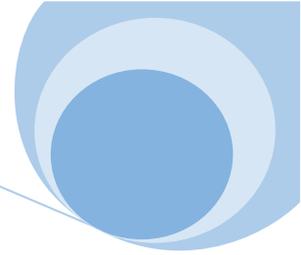
imprimem peças com maior precisão e confiabilidade anatômicas além de produzirem modelos em materiais resistentes à esterilização (MALIK *et al.*, 2015).

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que modelos 3D são fáceis de interpretar e podem ser utilizados como material complementar ao estudo tradicional da anatomia. Modelos sintéticos de órgãos com diferentes níveis de qualidade são comuns nos laboratórios de anatomia. Entretanto, esses modelos são, geralmente, réplicas mal-acabadas que não reproduzem estruturas internas e detalhes finos. Nos modelos de ossos e de intestino grosso produzidos foi possível reproduzir características anatômicas consideradas relevantes no ensino da anatomia.

Diversos estudos demonstram que, apesar de seguros e reutilizáveis, os modelos impressos apresentam desvantagens em relação à precisão, flexibilidade e textura. A precisão depende da tecnologia empregada e as diferenças milimétricas são relevantes apenas quando o estudo exige alto nível de precisão. Portanto, os modelos impressos podem ser vistos como recursos complementares ao ensino tradicional de anatomia que se baseia em ossos naturais e dissecações de cadáveres.

Vale mencionar que estudos revelaram menores diferenças anatômicas entre os exemplares originais e modelos impressos quando comparados a reconstruções tridimensionais digitais (LI *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2012). Somando-se a isto, já se entende que modelos 3D aumentam a percepção espacial dos estudantes, auxiliando no conhecimento dos elementos anatômicos e contribuindo decisivamente para o desenvolvimento de habilidades clínicas (BOYD; CLARKSON & MATHER, 2015).

As tecnologias de impressão 3D estão em plena evolução e certamente serão capazes de produzir modelos com maior qualidade em menores tempos de fabricação e custo. Inquestionavelmente, a impressão de modelos didáticos tanto para o ensino de anatomia quanto para a educação cirúrgica e prática clínica vem assumindo papel de destaque no cenário do ensino mundial.



4. REFERÊNCIAS

BASSANEZI C. R. Ensino aprendizagem com modelagem matemática: uma nova estratégia. São Paulo: Contexto, 2015.

BAUERMEISTER A. J.; ZURIARRAIN A.; NEWMAN M. I. Three-dimensional printing in plastic and reconstructive surgery a systematic review. *Annals of Plastic Surgery*, v. 77, n. 5, p. 569–576, 2016.

BOYD S.; CLARKSON E.; MATHER B. Learning in the third dimension. *The Veterinary record*, v. 176, n. 14, p. i–ii, 2015.

CHAE M. P.; *et al.* Emerging Applications of Bedside 3D Printing in Plastic Surgery. *Frontiers in Surgery*, v. 2, n. June, p. 1–14, 2015.

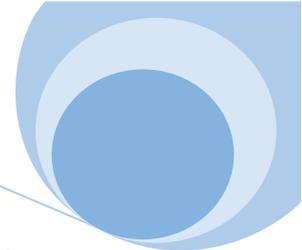
GARCIA J.; *et al.* 3D printing materials and their use in medical education: A review of current technology and trends for the future. *BMJ Simulation and Technology Enhanced Learning*, v. 4, n. 1, p. 27–40, 2018.

GO J.; HART A. J. A framework for teaching the fundamentals of additive manufacturing and enabling rapid innovation. *Additive Manufacturing*, Cambridge, Usa, v. 10, p.76-87, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addma.2016.03.00>

HAAVI T.; TVENGE N.; MARTINSEN K. CDIO design education collaboration using 3D-desktop printers. *Procedia Cirp*, v. 70, p. 325-330, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.procir.2018.03.277>.

KHALIL M. K.; MANSOUR M. M.; WILHITE D. R. Evaluation of Cognitive Loads Imposed by Traditional Paper-Based and Innovative Computer-Based Instructional Strategies. *Journal of Veterinary Medical Education*, v. 37, n. 4, p. 353–357, 2010.

LAU I. W. W.; *et al.* Clinical value of patient-specific three-dimensional printing of congenital heart disease: Quantitative and qualitative assessments. *PLoS ONE*, v. 13, n. 3, p. 1–15, 2018.



LI F.; *et al.* Production of accurate skeletal models of domestic animals using three-dimensional scanning and printing technology. *Anatomical Sciences Education*, v. 11, n. 1, p. 73–80, 2018.

LI J.; *et al.* Maximizing modern distribution of complex anatomical spatial information: 3D reconstruction and rapid prototype production of anatomical corrosion casts of human specimens. *Anatomical Sciences Education*, v. 5, n. 6, p. 330–339, 2012.

LIMA A. S.; *et al.* Printing 3D models of canine jaw fractures for teaching undergraduate veterinary medicine. *Acta Cirurgica Brasileira*, v. 34, n. 9, 2019.

MALIK H. H.; *et al.* Three-dimensional printing in surgery: a review of current surgical applications. *Journal of Surgical Research*, v. 199, n. 2, p. 512–522, 2015.

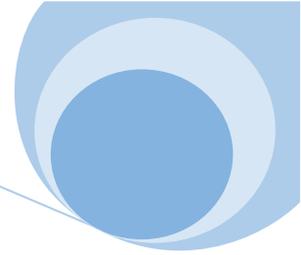
NETO N. S. G. Utilização de material alternativo para a obtenção e caracterização de biomodelos, por meio da técnica de impressão 3Dprinter. (Dissertação de Mestrado em Engenharia Mecânica). São Paulo. Universidade Estadual Paulista (UNESP). p. 55, 2016.

NIBBLETT B. M. D.; *et al.* Design and validation of a three-dimensional printed flexible canine otoscopy teaching model. *Simulation in Healthcare*, v. 12, n. 2, p. 91–95, 2017.

PATEL K. M.; MOXHAM B. J. The relationships between learning outcomes and methods of teaching anatomy as perceived by professional anatomists. *Clinical Anatomy*, v. 21, n. 2, p. 182–189, 2008.

PETERSON D. C.; MLYNARCZYK G. S. A. Analysis of traditional versus three-dimensional augmented curriculum on anatomical learning outcome measures. *Anatomical Sciences Education*, v. 9, n. 6, p. 529-536, 2016.

RENGIER F.; *et al.* 3D printing based on imaging data: Review of medical applications. *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery*, v. 5, n.



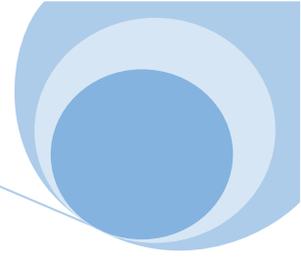
4, p. 335–341, 2010.

SCHOENFELD-TACHER R. M.; *et al.* Evaluation of 3D Additively Manufactured Canine Brain Models for Teaching Veterinary Neuroanatomy. *Journal of Veterinary Medical Education*, v. 44, n. 4, p. 612–619, 2017.

STERN A.; *et al.* Additive manufacturing: An education strategy for engineering students. *Additive Manufacturing, Israel*, v. 27, p.503-514, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addma.2019.04.001>.

VIOLANTE M. G.; VEZZETTI, E. Guidelines to design engineering education in the twenty-first century for supporting innovative product development. *European Journal of Engineering Education*, [s.l.], v. 42, n. 6, p.1344-1364, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/03043797.2017.1293616>

WANG Z.; *et al.* Is a three-dimensional printing model better than a traditional cardiac model for medical education? A pilot randomized controlled study. *Acta Cardiologica Sinica*, v. 33, n. 6, p. 664–669, 2017.



Capítulo 14

EPIGENÉTICA: O PROCESSAMENTO DA INFORMAÇÃO GÊNICA POR MEIO DOS MECANISMOS EPIGENÉTICOS, ASSIMILAÇÃO CELULAR E SUAS IMPLICAÇÕES BIOLÓGICAS

Mísia H Da S Ferro¹, Ana KF De Paula¹

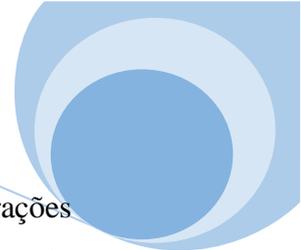
¹Biomédica, Universidade Geraldo Di Biase, Barra do Pirai/RJ.

1. INTRODUÇÃO

Como organismos que apresentam um determinado genótipo podem expressar diferentes fenótipos e transmiti-lo na linhagem germinativa? O organismo humano é composto por trilhões de células proveniente da multiplicação de uma célula ovo. Desta forma, todas as células de um mesmo organismo compartilham do mesmo material genético em seu genoma, numa sequência finita formada por apenas quatro bases nitrogenadas que se arranjam entre si e formam o código genético. Todavia, as células, mediadas pelo código genético, constituem funções diferentes em seus tecidos (FANTAPPIE, 2013).

A epigenética é uma ciência que busca compreender o que torna os mecanismos de leitura gênica variáveis nas células do organismo, as alterações das bases moleculares aos estímulos extracelulares e como que tais variações podem ser transmitidas nas divisões celulares. Junto a isto, o termo herança epigenética se refere a características que podem ser herdadas por meio da mitose e passadas para as próximas linhagens germinativas (MULLER & PRADO, 2008).

Conrad Hal Waddington, biólogo e conceituador do termo epigenética, elaborou pesquisas utilizando embriões de *Drosophila* expondo-o em condições não naturais ao seu desenvolvimento, na qual deu início a uma nova ciência, a epigenética e os conceitos a respeito herança epigenética por meio da memória celular (SANTOS, 2015).



A epigenética se tornou uma grande área de destaque devido as alterações químicas que regulam a expressão de genes. Modificações no processamento da informação genética implicam o organismo a se adaptar ao meio em que se encontra e apresentar características celulares diferentes com funções diferentes. No entanto, a epigenética pode ser uma ciência promissora para elucidar questões a respeito da saúde humana e até aonde a resposta epigenética não resultará em patologias (EGGER *et al.*, 2004).

2. JUSTIFICATIVA

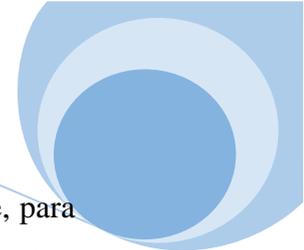
A epigenética desperta atenção, pois seus efeitos são potencialmente reversíveis e sucessíveis a terapias, diferentemente das modificações genéticas e suas mutações. Sendo assim, levantar questões a respeito dos mecanismos epigenéticos é de fundamental importância para esclarecer alterações no estado de saúde, assim como medidas de tratamento e mudanças na condição de vida através de aprofundamento científico.

3. METODOLOGIA

A metodologia empregada para a produção desse artigo foi baseada em revisão de literatura de caráter descritivo e teórico. O emprego desse método consistiu em enfoque de dados qualitativos por meio de pesquisas e interpretações, buscando compreender e dimensionar o assunto. Como embasamento teórico utilizou-se fontes de pesquisa como *Scielo*, *PubMed* e *MedLine* e livros acadêmicos. Nesse artigo foi apresentado conceitos e mecanismos da temática vigente, utilizando artigos científicos nacionais e internacionais.

4. DESENVOLVIMENTO

O conceito epigenética foi criado pelo britânico biólogo Conrad Hal Waddington, na década de 1940, na qual demonstrou em suas pesquisas que características adquiridas por respostas aos estímulos ambientais poderiam ser perpassadas por meio da herança não gênica (ou herança epigenética). Em suas pesquisas, Waddington tentou explicar como que a interação de um organismo ao



ambiente poderia alterar suas características fenotípicas, abordando a ideia de que, para que se compreenda a assimilação genética, isto é, a epigenética, primeiro era necessário elucidar as noções com relação à plasticidade fenotípica (WADDINGTON, 1957), tratando-se do fenômeno em que o genótipo ao ser exposto a diferentes ambientes desenvolvem fenótipos diferentes (SANTOS, 2015).

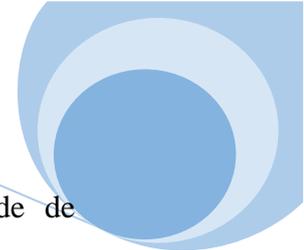
Suas pesquisas, apresentadas em seu livro “*The strategy of the genes*” (1957), Waddington utilizou embriões de *Drosophila* submetendo-os aos estímulos externos opostos ao natural desses organismos e montando linhagens com casais de moscas que apresentam mudanças epigenéticas e outros em suas condições normais. De acordo com o resultado de suas pesquisas, observou-se que a 12^o geração dessas moscas apresentavam marcas epigenéticas, sem ao menos obterem contato ao estímulo e o cruzamento das linhagens descendentes foram realizadas em ambientes naturais sem algum acometimento externo, na ausência de estímulos (SANTOS, 2015). De acordo com Tang & Ho (2007, p.2):

“O fenótipo alterado persistiu na população muito tempo após o estímulo ter sido removido, que a exposição a um fator ambiental durante um período poderia produzir uma mudança de fenótipo que durou uma vida inteira e se manifestou em subseqüentes gerações. Ele se referiu a esse fenômeno como “genéticoassimilação” ou “epigenética” na terminologia moderna”.

Em sua concepção, a ciência epigenética busca compreender como que as interações externas podem influenciar na plasticidade fenotípica de um organismo, mantendo sua estrutura gênica e transmitindo essa memória celular para uma linhagem mantida em condições normais (WADDINGTON, 1957).

O termo epigenética é de origem grega, onde o prefixo “*epi*” significa “acima ou sobre algo”. A epigenética é abordada como uma assimilação não genética, na qual estuda as mudanças na regulação da expressão de genes, sem alterar as sequências de bases nitrogenadas do DNA (MULLER & PRADO, 2008).

Com relação ao estudo da genética, a epigenética está diretamente associada a reversibilidade nos seus efeitos, pois quaisquer fatores que alteram os mecanismos de expressão gênica de um indivíduo podem descontinuar, de modo em que a região silenciada passa a ser ativa e codificada ou de maneira oposta. Entretanto, as características epigenéticas podem ser conservadas e perpassadas para linhagens celulares (ELSNER & SIQUEIRA, 2016). De acordo com Portela & Esteller (2008,



p.1057), a assimilação genética ou a epigenética, pode garantir variabilidade de organismos com características fenotípicas diferentes:

“Nos organismos multicelulares, a capacidade de marcas epigenéticas persistirem durante o desenvolvimento e, potencialmente, serem transmitidas para a descendência podem ser necessárias para gerar a grande variedade de diferentes fenótipos que surgem do mesmo genótipo”.

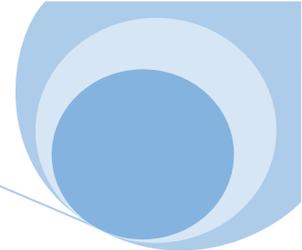
Sendo assim, entende-se que a epigenética busca compreender os meios que a biologia molecular aplica para manter a estabilidade do genoma e apresenta a fórmula dos organismos se manterem variáveis, singulares e funcionais (TANG & HO, 2007).

5. MECANISMOS EPIGENÉTICOS

Os mecanismos que correspondem a epigenética são regulados por componentes moleculares provenientes do DNA e no nucleoplasma (MULLER & PRADO, 2008). Com exercício de regular a expressão gênica, a alteração de leitura dos genes está ligada ao silenciamento por meio da compactação ou ativação pela descompactação do genoma, e isso varia pelos níveis de metilação nas regiões promotoras dos genes, portanto, permanecendo a sequência gênica sem alguma mutação. Conforme Bird (2002, p.1):

“Determinantes cruciais dos padrões de expressão gênica são fatores de transcrição de ligação ao DNA que escolhem genes para ativação ou repressão transcricional, reconhecendo a sequência de bases de DNA em suas regiões promotoras”.

Os eventos mais comuns dos mecanismos epigenéticos, hoje compreendidos, são metilação do DNA e modificações nas histonas por meio da acetilação. Esses mecanismos estão envolvidos no silenciamento genético ou na ativação de leitura do gene. Tais eventos epigenéticos estão associadas à memória celular, onde as atividades gênicas das células filhas desencadeiam os mesmos eventos epigenéticos da linhagem anterior (BIRD, 2002), tal como nas pesquisas de Conrad Hal Waddington que nomeou essa condição de herança epigenética, na qual hoje constata-se principalmente a herança epigenética por meio da metilação do DNA (WADDINGTON, 1957).



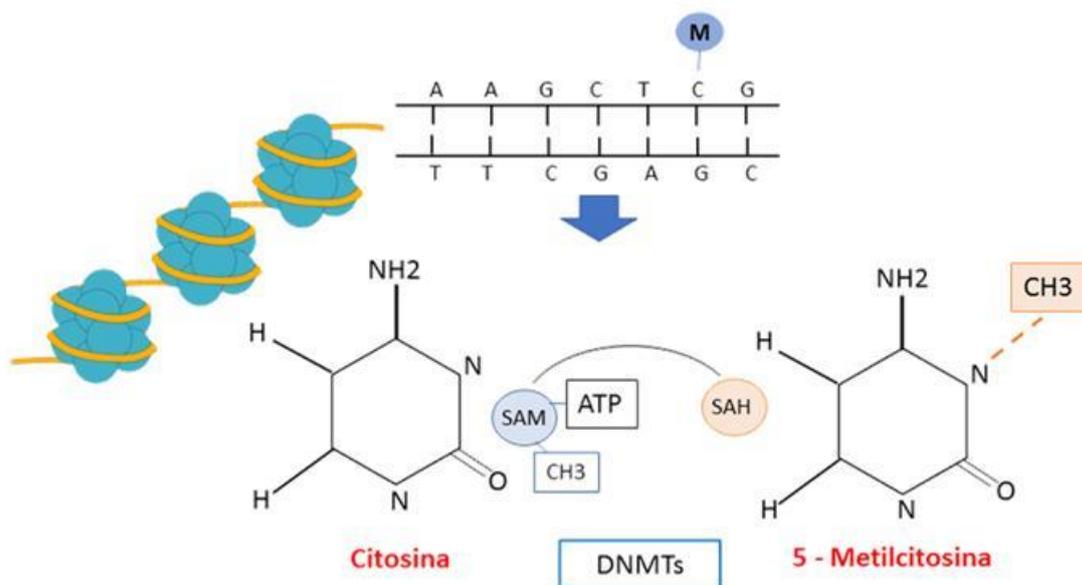
5.1. METILAÇÃO DO DNA

Metilação é um processo químico mediada por enzimas das classes metiltransferases (DNMTs) responsáveis por ocasionar alterações químicas diretamente no DNA (MOORE; LE & FAN, 2013). Esse mecanismo epigenético envolve a adição de um grupo metil, constituído de um átomo carbono ligado a três átomos de hidrogênio a uma sequência específica de CpG (Citosina-fosfato-Guanina), na região promotora ou regulatória do DNA denominada de dinucleotídeos. Essa ligação ocorre, em sua totalidade, no carbono 5 do anel da base nitrogenada citosina, formando o 5-metilcitosina, isto é, citosina metilada (SILVA *et al.*, 2016).

O agrupamento metil é procedente da molécula SAM (S-Adenosilmetionina). Sua formulação é constituída por uma molécula de adenosina trifosfato (ATP), uma sequência básica de aminoácidos denominada metionina e um agrupamento metil ligado à sua estrutura. No processo de metilação, a molécula SAM, mediada por DNMTs, perde seu agrupamento metil convertendo-se de SAM para SAH (S adenosil-L-homocisteína) que é direcionada para outras vias de metabolismo na célula. Todo esse sistema é denominado transmetilação, etapa em que um agrupamento metil é adicionado à formulação de um composto celular (AZEVEDO; FRANCO *et al.*, 2013). Como pode ser observado na Figura 1.

O processo de metilação das células eucariontes apresenta grandes dimensões em relação a regulação de genes. A inserção de um grupo metil ocorre apenas na citosina e, desde modo, a ligação do grupo metil faz com que não se suceda o reconhecimento pelos fatores de transcrição devido a especificidade das proteínas que medeiam o processo de reconhecimento das regiões promotoras, localizadas anteriormente às regiões codificantes, resultando inativação na região genômica (MOSS; WALLRATH, 2007).

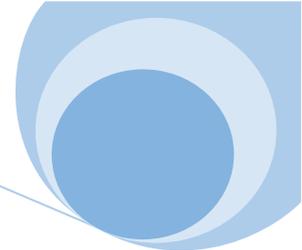
Figura 1. Observa-se a ocorrência da metilação mediadas pelas DNMTs sobre a moléculade SAM, liberando um agrupamento metil que se liga ao carbono 5 da citosina, na qual a molécula SAM se transforma em SAH e a citosina é convertida a 5-metilcitosina, à direita.



Fonte: Adaptado do site: www.bioqdocancer.blogspot.com

A metilação é mediada por enzimas das classes DNA metiltransferases, que incluem DNMT1, DNMT3A, DNMT3B, que catalisam a transferência de um grupo metil para a citosina (MULLER & PRADO, 2008). Cada grupo das metiltransferase efetua seu padrão de metilação durante a vida celular. A metilação é catalizada pelos grupos DNMT3A e DNMT3B em regiões em que não foram modificados pelo grupo metil, assim conhecidos e denominados de DNMT de novo. O grupo DNMT1, denominado de DNMT de manutenção, atua durante a replicação do DNA, mantendo o padrão de metilação original nas gerações celulares, adicionando um novo grupo metil na fita replicada de DNA e, atua ativamente na reparação da metilação na sequência do DNA (ELSNER & SIQUEIRA, 2016). Segundos os estudiosos:

“Embora muitos pesquisadores propusessem que a metilação do DNA poderia regular a expressão gênica, foi apenas na década de 1980 que vários estudos demonstraram que a metilação do DNA estava envolvida na regulação gênica e na diferenciação celular” (HOLLIDAY; PUGH, 1975; COMPERE; PALMITER, 1981). “Agora é bem reconhecido que a metilação do DNA, em conjunto com outros reguladores, é um importante fator epigenético que influencia as atividades gênicas” (MOORE; LE & FAN, 2013).



A desmetilação é um processo inverso a metilação, que ocorre de maneira passiva ou ativa. A desmetilação passiva decorre em processo de divisão celular, quando há inibição das enzimas DNMT1, responsável por manter o padrão de metilação no DNA replicado, resultando numa sequência gênica de citosinas não metiladas pela metiltransferase e uma região propícia aos fatores de transcrição. A desmetilação ativa se sucede por meio de reações químicas que clivam a ligação 5-metilcitosina, convertendo-a em uma cadeia comum de citosina. Porquanto, entendível os mecanismos enzimáticos de desmetilação ativa, sendo um foco de debate científico (BRENDER, 2004).

A metilação mediada pelo grupo DNMT1 ou DNMT de manutenção é um importante fator na herança epigenética, mantendo o mesmo padrão de informações de metilação para as próximas gerações de células (BIRD, 2002).

5.2. MODIFICAÇÃO DAS HISTONAS: ACETILAÇÃO E DE ACETILAÇÃO

As histonas são unidades proteicas fundamentais da cromatina vinculada ao DNA, com funções de promover a integridade e funcionalidade do genoma e mantê-lo no interior do núcleo celular. A conformação dos nucleossomos determina o nível de compactação do gene (ROBERTIS, 2008).

As histonas são constituídas por um complexo de subunidades de proteínas, sendo elas: H1, H2A, H2B, H3 e H4. Com a exceção da subunidade H1, os demais grupos de proteínas formam uma estrutura octamérica da seguinte maneira, como representada na Figura 2.

As proteínas H3 e H4 se associam para formar uma estrutura dimérica, ao passo que as proteínas H2A e H2B do mesmo modo, se somam. Os múltiplos dímeros (duas unidades proteicas) formados dessas associações se ligam formando tetrâmeros (quatro subunidades proteicas). O octâmero é formado quando integra um tetrâmero formado pelas proteínas H3 e H4 e um tetrâmero composto pelas proteínas H2A e H2B (MULLER & PRADO, 2008).

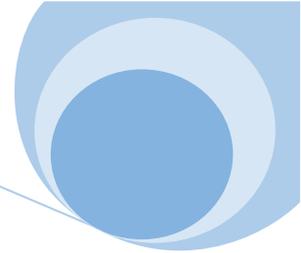
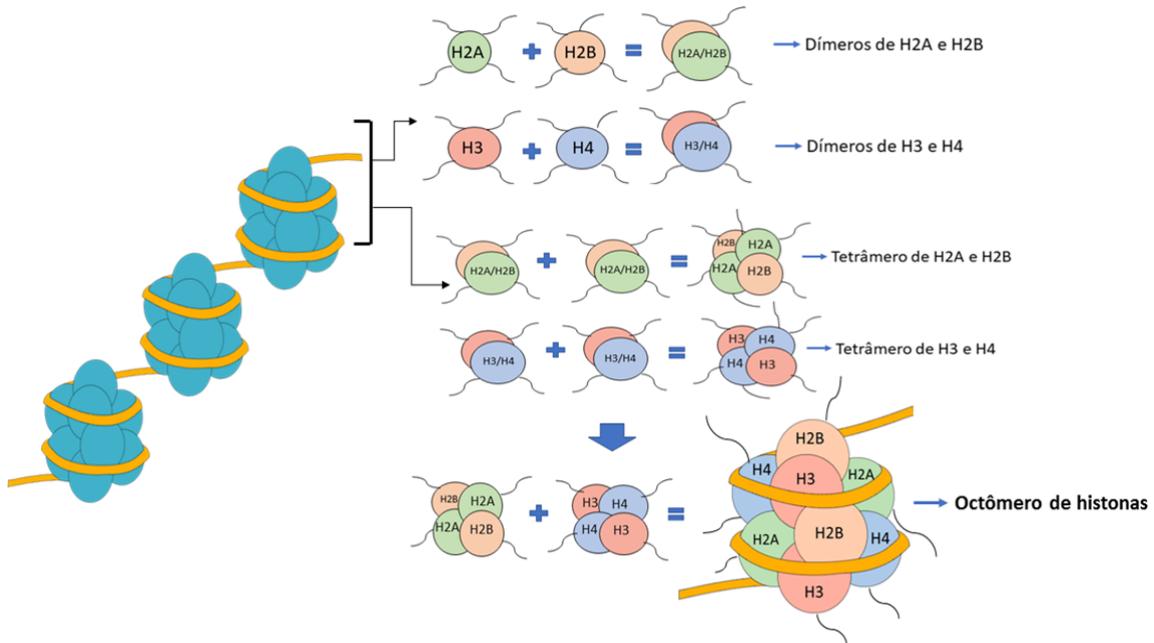


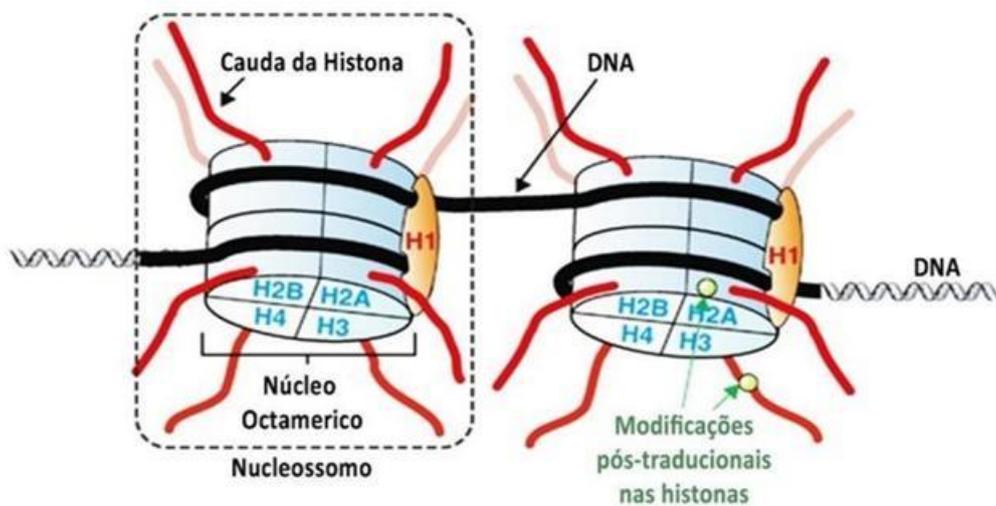
Figura 2. Imagem esquemática da estrutura de uma histona.



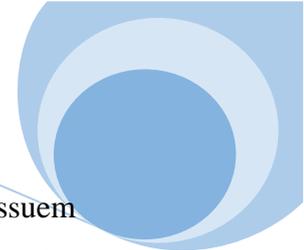
Legenda: Observa-se a associação das subunidades proteicas das histonas. Logo abaixo da imagem, observa-se o octâmero de histonas junto ao DNA, formando um nucleossomo. **Fonte:** Adaptado do site www.hnncbiol.blogspot.com

O DNA executa duas voltas e meia em torno do octâmero de histonas. Conquanto, a subunidade H1 das histonas emprega uma função distinta das demais subunidades, observando a Figura 3, examina-se que a proteína H1 atua como um grampo assentindo que o DNA permaneça imóvel (MENDITI & KANG, 2007).

Figura 3. Octâmero de Histonas.



Fonte: Modificado de Li, Carey & Workman, 2007.



Seguindo na Figura 3, pode-se verificar que os octâmeros de histonas possuem caudas livres que se prolongam para o exterior do nucleossoma conhecida como N-terminais ou lisinas. Essas caudas são constituídas por aminoácidos que são passíveis a variações moleculares e isso pode remodelar a conformidade da cromatina e por consequente a atividade dos genes. Em sítios específicos no N-terminais podem ocorrer modificações covalentes, e um dos principais grupos inserido na cauda do nucleossoma é o grupo acetil (ELSNER & SIQUEIRA, 2016).

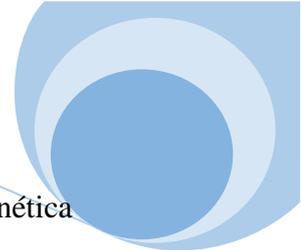
Acetilação é um processo químico mediada pela enzima histona acetiltransferase (HAT), adicionando um agrupamento acetil H₃C-COOH, proveniente da molécula acetil-coenzima A, na cauda do nucleossomo. A presença do grupo acetil neutraliza as ligações entre as proteínas com suas extremidades de carga positiva com o DNA de carga negativa, como afirma Elsner & Siqueira (2016):

“A acetilação neutraliza a carga positiva das extremidades dessas proteínas, enfraquecendo as interações eletrostáticas com o DNA, carregado negativamente. Tal processo causa, em geral, o relaxamento da estrutura da cromatina, facilitando a ação de fatores transcricionais.”

A neutralização da estrutura do nucleossomo permite o desprendimento do DNA da proteína e, por consequência, a região neutralizada fica descondensada permitindo que fatores de transcrição expressem os genes, agora ativos. Todas as modificações das histonas que envolvem acetilação, até o presente momento, de acordo com a literatura, liberam os genes de sua forma condensada, tornando-a acessível à transcrição. A desacetilação ocorre quando há perdas do grupo acetil no sítio da cauda do nucleossomo e esse processo é intervindo pelas enzimas histonas desacetilases, tornando a ligação dos nucleossomos mais compactada e densa. Muitos estudos apontam evidências de que a acetilação de histonas e outras modificações por intermédio de outros mecanismos epigenéticos podem ser herdadas mitoticamente, sendo esses estudos mais complexos que a metilação de DNA e em nível de pesquisa (OLIVEIRA, 2015).

6. EFEITOS BIOLÓGICOS E HERANÇA EPIGENÉTICA

Os mecanismos epigenéticos regulam os funcionamentos celulares ao longo da vida do organismo humano e tais eventos são consideráveis para determinar a característica celular e os efeitos biológicos do organismo humano, sendo estes



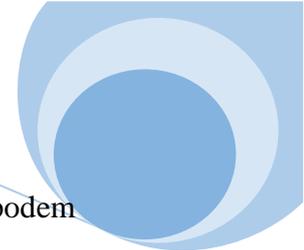
comportamental, psicológico, fenotípico e propensão a doenças. A resposta epigenética é variável e subjetivo a cada organismo vivo, atendendo os níveis de estímulos externos, sendo este: exposição a ionizantes e/ou outros tipos de radiação, hábitos rotineiros como o uso de tabaco, bebidas alcoólicas e alimentação, as condições de higiene, atividades físicas intensas e demais (BIRD, 2013). De acordo com Tang e Ho (2007):

“Os fenótipos resultantes que correspondem às demandas promoverão a saúde, enquanto um alto grau de incompatibilidade impedirá a adaptabilidade a desafios posteriores e elevará o risco de doenças”.

Os padrões de metilação variam do mesmo modo, ao decorrer do envelhecimento do organismo humano (MENDONÇA *et al.*, 2013; MULLER & PRADO, 2008). Dos mecanismos epigenéticos conhecidos, a metilação do DNA nos sítios CpGs se destaca por atuar ativamente no gene. A metilação de DNA pode sofrer dois principais desequilíbrios epigenéticos: hipermetilação, onde reprime o gene e o silencia e, hipometilação, onde ocorre poucas metilações nas regiões promotoras e, por conseguinte, o gene se torna ativo (MENDONÇA *et al.*, 2013).

Novas bases literárias evidenciam que a metilação, em sua desproporção, pode está diretamente ligada a formações de tumores por meio da hipometilação em genes proto-oncogenes. Proto-oncogenes são genes que comandam a proliferação e diferenciação celular (SERRANO *et al.*, 2014), e essas regiões pouco metiladas promovem acesso aos mecanismos de leitura gênica, gerando instabilidade no crescimento e multiplicação celular, sendo essas características fundamentais para o surgimento e progressão de tumores (MULLER & PRADO, 2008).

A hipermetilação pode causar efeitos biológicos no organismo humano quando há excesso de metilação nas regiões promotoras de genes supressores do tumor. Genes estes são responsáveis por promover a reparação do DNA, retardar a divisão celular e sinalizar a morte celular programada, apoptose. Fator de ativação de apoptose 1 ou Apaf – 1, é um exemplo de gene supressor de tumor que medeia uma função importante de prevenção de tumores, e em conjunto com outras proteínas regulam o processo de apoptose. A hipermetilação, deste e outros genes supressores, pode causar instabilidades genômicas quanto à perda de controle e reparo do DNA (ROTHHAMMER & BOSSERHOFF, 2007) resultado da inativação destes genes (MULLER & PRADO, 2008).

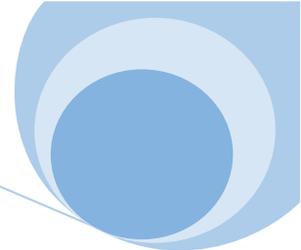


Os mecanismos epigenéticos que promovem alterações de leitura gênica podem sofrer desequilíbrios quando respondem ao ambiente ou alguma condição em que o organismo se expõe de maneira exorbitante. Um organismo exposto diretamente a radiação, tem os padrões de metilação e as alterações químicas das histonas alterados, e de acordo com Kovalchuck e colaboradores, ionizantes podem afetar o padrão de metilação em genes supressores de tumor, genes de reparo de DNA e pro-oncogenes (MENDONÇA *et al.*, 2013).

Os mecanismos epigenéticos podem sofrer padrões mais flexíveis. Por muitas décadas não se compreendia, a título de exemplo, a dissemelhanças de gêmeos monozigóticos, por apresentarem material genético idêntico. No entanto, há diferenciação nos mecanismos epigenéticos, resultado de condições ambientais e hábitos de vida e suscetibilidade do gêmeo quanto a doenças. Desde modo, a epigenética vislumbra a relação entre a resposta do genoma e o ambiente por meio do epigenoma. Nas palavras de Esteller (2008), a alteração das características de um organismo não é uma interrogação apenas para gêmeos monozigóticos, mas “a epigenética pode explicar como o mesmo genótipo pode produzir diferentes fenótipos”, pois até pesquisas com clones de animais, observou-se unicamente que os padrões epigenéticos são subjetivos (ESTELLER, 2008).

Conrad Hal Waddington elucidou em suas pesquisas as características biológicas de um organismo ao expô-lo a condições não naturais, nas quais se pode compreender que o genoma responde de maneira a adaptar-se ao ambiente. Contudo, os experimentos com *Drosophila* e com os fenótipos adquiridos a partir de sua pesquisa, concluíram que as características assimiladas foram transferidas para gerações posteriores (SANTOS, 2015).

Deste modo, novas bases de pesquisas apontam que os padrões de metilação podem ser restaurados durante as divisões celulares por meio da DNMTs de manutenção e toda a informação adquirida na célula podem ser assimiladas e mantidas como memória celular e ser transmitida para linhagens seguintes. De acordo com Marcelo Fantappie (2013) a herança epigenética pode manter-se marcada na célula do organismo humano e “através da herança epigenética um organismo pode ajustar a expressão gênica de acordo com o ambiente onde vive, sem mudanças no seu genoma” (FANTAPPIE, 2013).

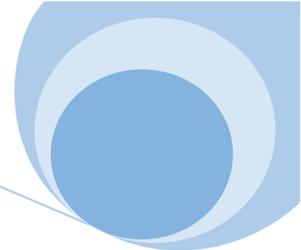


7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar do DNA constituir toda a informação gênica de um organismo e estabelecer todas as suas características fenotípicas e biológicas, a epigenética nos permite vislumbrar a complexidade do genoma humano.

Os mecanismos moleculares respondem de maneira a promover saúde e impossibilitar patologias. Desde modo, a resposta celular a algum estímulo pode ocorrer de maneira flexível, onde o organismo apresenta as características fenotípicas e, pode ocorrer de forma extrema, onde em regiões em que os genes devem ser controlados, como proto-oncogenes, são ativados e em regiões que precisam ser expressos, como genes supressores do tumor, encontram-se silenciados. O entendimento dos mecanismos epigenéticos pode elucidar meios de prevenção e tratamento de tumores e outras patologias.

A epigenética aborda a genética molecular com conceitos mais profundos a respeito da estrutura, leitura e função dos genes. Desde modo, o presente artigo evidenciou-se a complexidade do código genético humano e suas bases moleculares de leitura. Para a ciência biomédica, compreender a epigenética, seus mecanismos e as informações herdadas permite a busca de novas e melhores condições de saúde humana e o entendimento de inúmeras doenças do século que falecem exacerbadamente o organismo humano. Toda a revisão proposta neste artigo denota que o genoma humano é um mapa a se explorar e que há muito a se saber, e assim afirmamos com as palavras do filósofo escritor Fiódor Dostoiévski: “Não há assunto tão velho que não possa ser dito algo de novo sobre ele”.



8. REFERÊNCIAS

AZEVEDO, J.M.; FRANCO, M.M., S-adenosil-L-homocisteína como substância desmetilante de DNA no cultivo de células doadoras de núcleo, Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, 2013.

BIRD, A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes & development*, v. 16, n. 1, p. 6-21, 2002.

BRENDER J. DNA Methylation And Epigenetics. *Annual Review of Plant Biology*. v. 55, p. 41-68, 2004.

COMPERE S. J.; PALMITER R. D. DNA methylation controls the inducibility of the mouse metallothionein-I gene in lymphoid cells. *Cell*, v. 25, n. 1, p. 233-240, 1981.

EGGER G.; *et al.* Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature*, v. 429, n. 6990, p. 457-463, 2004.

ELSNER V. R.; SIQUEIRA I. R. Epigenética aplicada à saúde e à doença: princípios fundamentais baseados em evidências atuais, Editora Universitária Metodista, 2016.

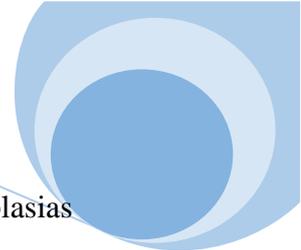
ESTELLER M. Epigenetics in evolution and disease. Elsevier, v. 372, s90-s96, 2008.

FANTAPPIE M.; Epigenética e Memória Celular. Universidade Federal do Rio de Janeiro. *Revista Carbono*, v. 3, 2013.

HE C.; COLE P. Introduction: Epigenetics. HHS Public Access, 2016.

HOLLIDAY R.; PUGH J. E. DNA modification mechanisms and gene activity during development. *Science*, v. 187, n. 4173, p. 226-232, 1975.

LI B.; CAREY M.; WORKMAN J. L. O papel da cromatina durante a transcrição. *Cell*, v. 128, n. 4, p. 707-719, 2007.



MENDITI K. B. C.; KANG H. C. O papel das proteínas histonas nas neoplasias hematológicas. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 2007.

MENDONÇA B. B.; *et al.* Os eventos biológicos, especialmente os mecanismos epigenéticos, são alterados pela exposição do indivíduo a radiação ionizante. *Acta de Ciências e Saúde*, v. 1, n. 2, p. 50-67, 2013.

MOORE L. D.; LE T.; FAN G. DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology*, v. 38, n. 1, p. 23-38, 2013.

MULLER H. R.; PRADO, K. B. Epigenética: um novo campo da genética. *RUBS, Curitiba*, v.1, n.3, p.61-69, 2008.

OLIVEIRA R. A compreensão da epigenética e de seus mecanismos, Monografia, Universidade Federal do Paraná, 2015.

PORTELA A.; ESTELLER M. Epigenetic modifications and human disease, *Nature Biotechnology*, v. 28, n. 10, p. 1057, 2010.

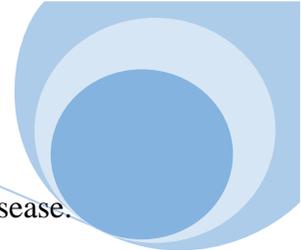
ROBERTIS E. *Biologia Celular e Molecular*. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, ed. 14, 2008.

ROTHHAMMER T.; BOSSERHOFF A. K. Epigenetic events in malignant melanoma, *Pigment Cell & Melanoma*, v. 20, n. 2, p. 92-111, 2007.

SANTOS C. G. Conrad Hal Waddington e a assimilação genética. Grupo de História e Teoria da Biologia (GHTB), USP, São Paulo, 2015.

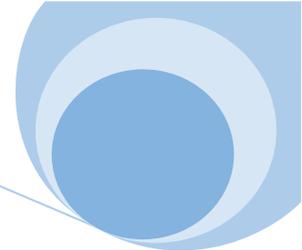
SERRANO R.; *et al.* Oncogenes, genes supressores de tumores, microRNAs e o desenvolvimento de tumores, *Revista Brasileira de Medicina*, 2014.

SILVA L. N.; *et al.* Mecanismos epigenéticos. *Conexão Eletrônica*, v. 13, n. 1, 2016.



TANG W.Y.; HO S. M. Epigenetic reprogramming and imprinting in origins of disease. Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders, v. 8, n. 2, p. 173-182, 2007.

WADDINGTON C. H. The strategy of the genes, Routledge Library Editions, v. 20, 1957.



Capítulo 15

ALERGIA ALIMENTAR AO LEITE DE VACA: DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO

Poliana A De Queiroz¹, Marcia FM Santos², José AF Cardoso³

¹Acadêmica de Licenciatura em Biologia, Instituto Federal de Ciência e Tecnologia São Luís/MA; Graduada em Biomedicina, Faculdade Estácio de São Luís; Pós Graduação em Microbiologia, Favene; Pós Graduação em Hematologia, Faculdade Unyleia de Brasília; Pós Graduação em Oncologia e Cuidados Paliativos, Faculdade Laboro São Luís/MA.

²Acadêmica de Licenciatura em Biologia, Instituto Federal de Ciência e Tecnologia São Luís/MA; Graduada em Biomedicina, Faculdade Estácio de São Luís; Pós Graduanda em Microbiologia, Favene.

³Graduação em Biomedicina, Faculdade Estácio de São Luís, São Luís/MA.

1. INTRODUÇÃO

A alergia alimentar constituiu um problema de saúde pública afetando indivíduos de qualquer idade. É definida como uma reação adversa resultante do sistema imunitário específico que acontece de forma a reproduzir após se expor a um dado alimento o qual é diferente de outras respostas adversas como a repugnância alimentar ou reações mediadas por toxinas (CAFFARELLI; ROQUEJOFFRE & SIRE, 2010).

A alergia às proteínas do leite de vaca (APLV) constitui a alergia alimentar mais frequente em crianças com idade inferior a três anos, todavia a APLV com manifestações gastrointestinais (GI) ocorre em qualquer idade. No entanto estas respostas imunológicas aos alimentos podem ser causadas por mecanismos adversos ou não adversos (CAFFARELLI; ROQUEJOFFRE & SIRE, 2010).

Podemos citar alguns mecanismos pelos quais os alimentos podem causar efeitos prejudiciais ao indivíduo que tem alergia alimentar à proteína do leite de vaca. As infecções produzidas por alimentos com deficiências de enzimas digestivas como no caso da intolerância à lactose, ocorre presença de toxinas (intoxicação alimentar), contaminantes (metais pesados e antibióticos) e agentes farmacológicos nos alimentos



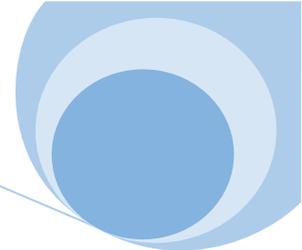
como cafeína, histamina, e algumas vezes as aversões de natureza psicológica (CAFFARELLI; ROQUEJOFFRE & SIRE, 2010).

Por isso algumas vezes o paciente com desconfiança de alergia alimentar é encaminhado ao profissional gastroenterologista pediátrico para adequar o tratamento de restrição de determinados nutrientes. Além disso, o diagnóstico de APLV (alergia à proteína do leite de vaca) representa uma enorme consequência socioeconômica na qualidade de vida do paciente, de sua família e nas políticas públicas de saúde. Portanto é de grande importância que os profissionais que atuam na área da saúde estejam capacitados a reconhecer os sintomas que coexistem com alergia alimentar ao leite de vaca e confirmar sua suspeita diagnóstica e indicar o tratamento adequado para cada caso (CAFFARELLI; ROQUEJOFFRE & SIRE, 2010).

Em outros casos ocorre o que chamamos de hipersensibilidade alimentar é definida como uma reação clínica adversa reproduzível após a ingestão de proteínas alimentares, mediada por resposta imunológica exagerada. As reações de hipersensibilidade podem ser mediadas ou não pela IgE (anticorpo de reação imediata). Assim, a alergia alimentar define-se por reações contrárias após a ingestão de alimentos, resultantes de uma resposta imunológica anormal ou exagerada às respectivas proteínas presentes nestes alimentos (VENTER *et al.*, 2006).

Entretanto nos indivíduos saudáveis, a ingestão de proteínas induz mecanismos de hiporreatividade antigénica que visam a aquisição de tolerância oral. A sua falência pode precipitar o desenvolvimento de hipersensibilidade alimentar (VIEIRA *et al.*, 2010).

Portanto, devido a essa importância da fonte proteica do leite de vaca, os pacientes com alergia a esse alimento devem ter a sua eliminação da dieta de forma adequada, para que através de outros alimentos possam ser supridos os nutrientes e não prejudique o crescimento e desenvolvimento normal (NIGGEMANN *et al.*, 2008). Diante do estudo a meta foi definir os principais tipos de diagnósticos e tratamento para alergia a proteínas do leite de vaca (APLV) a partir do reconhecimento e discussão da elaboração científica acerca do tema.



2. METODOLOGIA

Trata-se de uma pesquisa de revisão bibliográfica, onde se realizou uma análise de 20 artigos de literatura com abordagem predominante descritiva qualitativa. O período de pesquisa e coleta de dados foi de agosto a dezembro de 2018.

A pesquisa bibliográfica foi desenvolvida e fundamentada a partir da análise de artigos científicos obtidos nas bases de dados *PubMed*, *Scopus*, *Science direct*, entre outros artigos. Buscou-se construir uma revisão de literatura acerca dos principais índices de APLV, tendo como princípio e direcionamento a apresentação da patologia com ênfase nas características do seu diagnóstico e tratamento.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi verificada uma maior prevalência de pessoas afetadas com alergia alimentar a leite de vaca numa estimativa de 2% a 8% em crianças e 3% em adultos, nesse contexto, os artigos foram lidos e selecionados criteriosamente e agrupados em três categorias: a) Manifestações clínicas e estimativas de pessoas com APLV; b) Características diagnósticas; c) Tratamento.

3.1 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E ESTIMATIVAS DE PESSOAS COM APLV.

Na Tabela 1 são apresentadas as estimativas de alergia a diferentes tipos de alimentos, de acordo com avaliações realizadas nos Estados Unidos da América do Norte.

Segundo estudos realizados por Dupont (2011) as proteínas do leite de vaca são a principal causa de alergia alimentar no lactente. No Brasil praticamente não existem informações precisas sobre a prevalência populacional de Alergia à Proteína do Leite de Vaca.

As reações mediadas pela IgE ocasionam reações imediatas (minutos ou no máximo horas) após a ingestão do alimento que contenha a proteína alergênica (Tabela 2). Por sua vez, as reações mediadas por células demandam um período maior para se estabelecer. São as reações mediadas por células as predominantes nos lactentes.

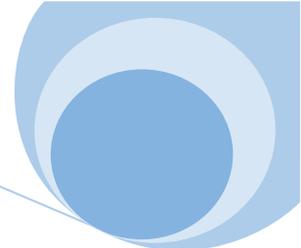


Tabela 1. Taxas estimadas de alergia alimentar na América do Norte.

	Prevalência	
	Lactente/Criança	Adulto
Leite	2,5%	0,3%
Ovo	1,5%	0,2%
Amendoim	1,0%	0,6%
Crustáceos	0,5%	0,6%
Peixe	0,1%	0,4%
Castanha e nozes	0,1%	2,0%
Trigo e soja	0,4%	0,3%
Gergelim	0,1%	0,1%
Total	5,0%	3%-4%

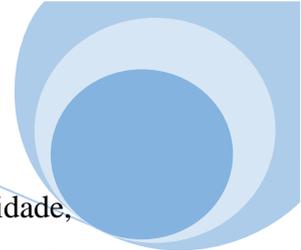
Fonte: Segundo Dupont (2011).

Vale destacar que a maioria dos lactentes com Alergia à Proteína do Leite de Vaca mediada por células em geral desenvolvem tolerância oral espontânea ao completar um ou dois anos de idade. Assim, não cabem propostas para estes casos de métodos que visem acelerar o desenvolvimento da tolerância oral, ao contrário das medidas questionadas tentadas em pacientes com maior idade, com reações alérgicas graves, do tipo anafilaxia (mediadas pela IgE). Para estes casos existem, em poucos núcleos de pesquisa do mundo, projetos preliminares que visam induzir tolerância para proteger estes pacientes de reações graves, inclusive em eventos com exposição involuntária ao alérgenos (PRESCOTT *et al.*, 2010).

Tabela 2. Manifestações clínicas da Alergia à Proteína do Leite de Vaca, segundo a faixa etária.

Lactentes	Pré-escolares	Escolares
<ul style="list-style-type: none"> · Cólica do lactente · Refluxo gastroesofágico · Proctocolite/colite eosinofílica · Refluxo gastroesofágico · Constipação intestinal crônica · Enterocolite · Enteropatia 	<ul style="list-style-type: none"> · Gastroenteropatia eosinofílica · Esofagite eosinofílica · Hipersensibilidade gastrointestinal imediata · Constipação intestinal crônica 	<ul style="list-style-type: none"> · Síndrome da alergia oral · Esofagite eosinofílica · Constipação intestinal crônica

Fonte: Segundo Dupont (2011).



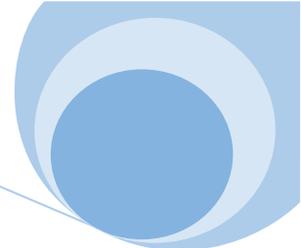
A cólica do lactente pode ser definida pela ocorrência de crises de irritabilidade, choro e agitação, sem explicação plausível, por mais de três horas diárias, em mais de três dias da semana por mais de três semanas. Existe possibilidade de a cólica do lactente ser secundária à APLV, mesmo em lactentes em aleitamento materno exclusivo. Considera-se que esta manifestação é não IgE mediada e ainda não se sabe a prevalência de Alergia à Proteína do Leite de Vaca entre os pacientes com cólica do lactente. Nos casos de lactentes que recebem aleitamento natural exclusivo, a proteína do leite de vaca deve ser suspensa da dieta da mãe por duas semanas. Se houver melhora é interessante realizar teste de desencadeamento, oferecendo leite de vaca e/ou derivados à mãe e avaliar a recorrência das cólicas no lactente (PRESCOTT *et al.*, 2010).

Regurgitações e vômitos podem ser ocasionados por doença do refluxo gastroesofágico secundária à Alergia à Proteína do Leite de Vaca. Na última diretriz conjunta das Sociedades Europeia e Norte-americana de Gastroenterologia Pediátrica a possibilidade da Alergia à Proteína do Leite de Vaca ser causa da doença de refluxo gastroesofágico recebeu grande destaque (VANDENPLAS *et al.*, 2009). Recomenda-se que entre os procedimentos necessários para o diagnóstico diferencial de lactentes com regurgitações e vômitos associados ou não com déficit de ganho de peso e irritabilidade deve ser tentada dieta de exclusão do leite de vaca e derivados.

Nos lactentes que não recebem aleitamento natural, a fórmula deve ser substituída por fórmula com proteínas extensamente hidrolisadas ou de aminoácidos. Considerando que este problema em geral ocorre no primeiro semestre de vida, não deve ser recomendada fórmula de soja.

Não existe informação precisa sobre a prevalência de Alergia à Proteína do Leite de Vaca entre os lactentes com quadro compatível com doença do refluxo gastroesofágico.

Por outro lado, 53% dos lactentes atendidos por suspeita de Alergia à Proteína do Leite de Vaca por gastroenterologistas pediátricos no Brasil apresentam regurgitações e vômitos (VIEIRA *et al.*, 2010).



3.2. CARACTERÍSTICA DIAGNÓSTICA

No Brasil foram realizados alguns estudos, resumidos na Tabela 3, para avaliar o teste de desencadeamento. A positividade variou segundo o tipo de manifestação clínica predominante (não-IgE ou IgE mediada) e idade dos pacientes. No primeiro estudo publicado, realizado em serviços de gastroenterologia pediátrica, constatou-se desencadeamento positivo em 23,1% dos pacientes, sendo que a casuística se encontrava a longo tempo em dieta de eliminação. Outro estudo, realizado em ambulatório de gastropediatria, mostrou maior positividade do teste de desencadeamento. Ao que tudo indica, a duração da dieta de eliminação foi menor, assim como a idade dos pacientes com teste de desencadeamento positivo (LINS *et al.*, 2010). Os demais estudos incluíram pacientes nos quais foi caracterizada sensibilização. Foram realizados em serviços de alergia.

Tabela 3. Resumo de estudos clínicos realizados no Brasil a respeito de teste de desencadeamento para diagnóstico de Alergia à Proteína do leite de Vaca (Atenção: em nenhum estudo foi realizado teste de desencadeamento em pacientes com antecedente de anafilaxia).

	Correa (2010) ⁽²⁴⁾	Lins (2010) ⁽²⁵⁾	Mendonça (2012) ⁽²⁶⁾	Gushken (2012) ⁽²⁷⁾
Especialidade	Gastroenterologia	Gastroenterologia	Alergia	Alergia
Cidade	São Paulo (SP), Curitiba (PR)	Recife (PE)	São Paulo (SP), Aracaju (SE)	São Paulo (SP)
Número de pacientes	121	65	46	39
Idade	4 a 95 meses, dos 28 com menos de 12 meses, 8 apresentaram desencadeamento positivo	75% abaixo de 9 meses nos positivos 75% abaixo de 11 meses nos negativos	Idade mediana = 13,8 meses variando de 6 a 29 meses	Mediana = 8 anos variando de 1 a 15 anos
Duração da dieta de exclusão	62 pacientes por mais de 24 semanas	Pelo menos 15 dias	Não mencionado	Não mencionado
Tipo de desencadeamento	Aberto	Aberto	Aberto	Duplo-cego controlado por placebo realizado em um único dia
Desencadeamento positivo	28 (23,1%)	35 (53,8%)	17 (41,3%)	39 (100,0%)

Fonte: Segundo Dupont (2011).

A positividade dos testes variou de 41,3% a 100,0%. No estudo no qual se realizou teste de desencadeamento duplo-cego controlado por placebo, observou-se



resultados positivos com o placebo em 5 dos 58 pacientes estudados. Em um dos artigos, de pacientes com alergia imediata mediada pela IgE, foi necessária a administração em pacientes que desenvolveram reações com maior gravidade (CORREA *et al.*, 2010).

Os vários métodos são discutidos de maneira sintética e objetiva. Com relação à IgE sérica específica ("RAST", "Imunocap") e ao teste cutâneo de leitura imediata ("prick test") se afirmar que a realização simultânea dos dois testes na avaliação diagnóstica é desnecessária. A presença de sensibilização, indicada por qualquer um destes testes, deve ser interpretada em conjunto com outros dados clínicos e evolutivos. Ou seja, sensibilização não é diagnóstico de alergia. Destacam ainda que, com frequência, nas reações não mediadas pela IgE se caracteriza sensibilização, ou seja, ambos os exames (determinação de IgE específica e teste cutâneo de leitura imediata) são negativos (KOLETZKO *et al.*, 2012).

Por sua vez, grande destaque é atribuído à resposta clínica à dieta de exclusão. Este é um ponto com o qual concordamos plenamente e que muitas vezes é deixado em segundo plano, tanto pelos familiares como por alguns profissionais que valorizam de forma exagerada os exames subsidiários. Assim, a dieta de eliminação deve proporcionar melhora clínica quando se trata de Alergia à Proteína do Leite de Vaca e a dieta é administrada de forma apropriada. A diretriz destaca que "a duração da dieta de eliminação depende das manifestações clínicas, deve ser a mais breve possível, no entanto, suficientemente longa para julgar a evolução dos sintomas". Assim, a duração varia de 3 a 5 dias para reações imediatas (por exemplo, angioedema, vômitos e exacerbação imediata de eczema); de 1 a 3 semanas para crianças com reações tardias (por exemplo, sangramento fecal e piora de eczema). Para pacientes com diarreia crônica e déficit de crescimento pode ser necessário realizar a eliminação por 2 a 4 semanas, para observar de forma clara o efeito positivo da dieta de eliminação. Destaca, ainda, que quando não houver resposta favorável é pouco provável o diagnóstico de Alergia à Proteína do Leite de Vaca, devendo-se considerar outros diagnósticos diferenciais. Deve ser destacado que estes procedimentos são direcionados basicamente aos lactentes (KOLETZKO *et al.*, 2012).

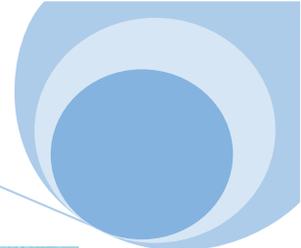


Tabela 4. Fórmulas substitutivas lactentes com Alergia à Proteína do leite de vaca.

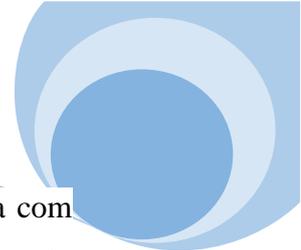
	Fonte de nitrogênio	Contém lactose	Contém TCM	Valor energético (calorias por 100 mL)	Conteúdo de cálcio (mg por 100 mL)
Fórmula com proteína extensamente hidrolisada	Proteína do soro do leite extensamente hidrolisada ¹	Não	Sim	66	50
	Proteína do soro do leite extensamente hidrolisada ²	Não	Sim	70	54
	Caseína extensamente hidrolisada ³	Não	Sim	68	64
	Proteína de soja e colágeno extensamente hidrolisado ⁴	Não		74	73
	Proteína do soro do leite extensamente hidrolisada ⁵	Sim	Não	66	47
	Proteína do soro do leite extensamente hidrolisada ⁶	Sim	Não	70	41
Fórmula de aminoácidos	Aminoácidos livres ⁷	Não	Não	71	49
	Aminoácidos livres ⁸	Não	Sim	100	50
	Aminoácidos livres ⁹	Não	Não	73	74

Fonte: Segundo Dupont (2011).

Com frequência a dieta de eliminação tem início no primeiro semestre de vida. Por ocasião do sexto mês devem ser iniciados os alimentos complementares, evidentemente isentos de proteína do leite de vaca. De acordo com a diretriz da ESPGHAN, os alimentos devem ser incluídos na dieta, um de cada vez, iniciando com pequena quantidade. Retardo na introdução de alimentos muito alergênicos (ovo, peixe, trigo) não deve ser preconizado (não reduz risco de desenvolvimento de outras alergias). Se não houver diagnóstico de alergia a esses alimentos, os mesmos devem ser incluídos normalmente, como complemento da dieta de eliminação (KOLETZKO *et al.*, 2012).

3.3. TRATAMENTO

Dieta de exclusão das proteínas do leite de vaca: O princípio básico é realizar dieta substitutiva (Tabela 5) que não contenha proteínas do leite de vaca e que não apresente risco de reação cruzada ou de sensibilização, com desenvolvimento de alergia a mais um alimento. As fórmulas com proteínas parcialmente hidrolisadas não são eficazes para o tratamento da Alergia à Proteína do Leite de Vaca.



A não utilização de fórmula substitutiva se associa a maior risco de dieta com quantidade insuficiente de cálcio. É frequente a necessidade de prescrição de suplemento de cálcio (MEDEIROS *et al.*, 2004).

Tabela 5. Proposta de orientação para dieta de leite de vaca e derivados.

Informações básicas
· Todos os produtos e preparações que contêm leite de vaca não podem ser usados na alimentação da criança.
· Não compre alimentos que não tenham a relação de todos os ingredientes na embalagem ou rótulo.
· Durante a dieta isenta do leite de vaca e derivados, leite de outros animais como cabra, búfala ou ovelha também não podem ser utilizados na alimentação.
· Não compre produtos vendidos sem embalagem ou por unidade.
· <u>É obrigatória a leitura</u> dos rótulos das embalagens de qualquer produto usado na alimentação da criança.
· Procure identificar a presença do leite de vaca nos rótulos, encontrando a palavra <u>leite</u> ou <u>termos relacionados</u> ao leite de vaca.
· Mesmo conhecendo o produto, procure ter o hábito de ler o rótulo e embalagem, pois podem ocorrer alterações na composição dos produtos .
Termos indicativos da presença de leite na composição do alimento
· <u>Termos muito comuns</u> (sempre apresentam a palavra leite): Leite integral, leite semidesnatado, leite desnatado, leite em pó, leite em pó desnatado.
· <u>Termos comuns</u> : Soro do leite, traços do leite, formulação láctea, preparação láctea, laticínios, proteína do leite de vaca, fermento lácteo.
· <u>Termos pouco comuns</u> : Caseína, caseinato, lactoalbumina, lactoglobulina.

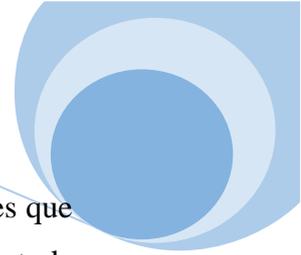
Fonte: Medeiros *et al.*, (2004).

Lembrar que os familiares devem ser instruídos quanto à necessidade de leitura dos rótulos de alimentos utilizados como complementares (MEYER *et al.*, 2012).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

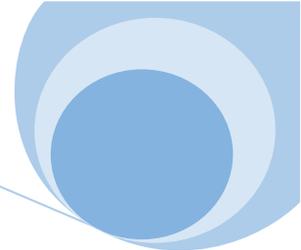
O elevado índice de APLV por observado nos artigos estudados sugere a prevalência de formas assintomáticas da doença nas crianças e adultos de qualquer idade. Medidas de controle devem ser efetivadas nas áreas de estudo e direcionadas prioritariamente a qualquer faixa etária onde se observa cada vez maior número de casos registrados da doença.

Assim, a coleta de informações sobre as características epidemiológicas, clínicas e diagnósticas identificadas no estudo sugere uma observação mais eficaz é necessário a implantação de ações voltadas para as intervenções e educação em saúde, juntamente



com a equipe de saúde, para abordagem dos fatores condicionantes e determinantes que levam as pessoas a adquirir tal doença e os meios de prevenção visando beneficiar toda a população.

Portanto a APLV, é uma doença imunologicamente mediada que ocorre em idades mais precoces, habitualmente no primeiro ano de vida, com formas de apresentação clínica que podem ser muito graves e exigem a evicção estrita das PLV, embora sejam quadros transitórios e, com bom prognóstico, no entanto um indivíduo com APLV pode apresentar uma gama de sintomas, sendo, indispensáveis o conhecimento das diversas formas clínicas e um minucioso teste, a fim de efetuar o diagnóstico correto.



5. REFERÊNCIAS

CAFFARELLI L. A.; ROQUEJOFFRE J. M.; SIRE Y. Variational problems with free boundaries for the fractional Laplacian. *Journal of the European Mathematical Society*, v. 12, n. 5, p. 1151-1179, 2010.

CORREA F. F.; *et al.* Open challenge for the diagnosis of cow's milk protein allergy. *Jornal de Pediatria*, v. 86, n. 2, p. 163-6, 2010.

DUPONT C. Food allergy: recent advances in pathophysiology and diagnosis. *Annals of Nutrition and Metabolism*, v. 59, n. Suppl. 1, p. 8-18, 2011.

KOLETZKO L.; *et al.* Abordagem diagnóstica e manejo da alergia à proteína do leite de vaca em lactentes e crianças: orientações práticas de Comitê de GI do ESPGHAN. *JPGN*, v. 55, n. 2, p.221-229, 2012.

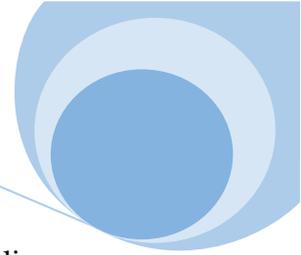
LINS M. G.; *et al.* Oral food challenge test to confirm the diagnosis of cow's milk allergy. *Jornal de Pediatria*, v. 86, n. 4, p. 285-289, 2010.

MEDEIROS L. C.; *et al.* Nutrient intake and nutritional status of children following a diet free from cow's milk and cow's milk by-products. *Jornal de Pediatria*, v. 80, n. 5, p. 363-70, 2004.

MEYER R.; *et al.* Practical dietary management of protein energy malnutrition in young children with cow's milk protein allergy. *Pediatric allergy and immunology*, v. 23, n. 4, p. 307-314, 2012.

NIGGEMANN B.; *et al.* Safety and efficacy of a new extensively hydrolyzed formula for infants with cow's milk protein allergy. *Pediatric Allergy and Immunology*, v. 19, n. 4, p. 348-354, 2008.

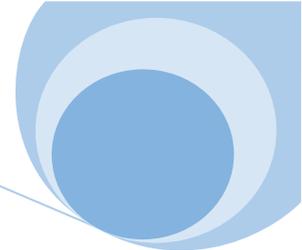
PRESCOTT S. L.; *et al.* Avoidance or exposure to foods in prevention and treatment of food allergy? *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, v. 10, n. 3, p. 258-266, 2010.



VANDENPLAS Y.; *et al.* Pediatric gastroesophageal reflux clinical practice guidelines: joint recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (NASPGHAN) and the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (ESPGHAN). *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, v. 49, n. 4, p. 498-547, 2009.

VENTER C.; *et al.* Prevalence of sensitization reported and objectively assessed food hypersensitivity amongst six-year-old children: a population-based study. *Pediatric Allergy Immunology*, v. 17, n. 5, p. 356-363, 2006.

VIEIRA M. C.; *et al.* A survey on clinical presentation and nutritional status of infants with suspected cow'milk allergy. *BMC pediatrics*, v. 10, n. 1, p. 25, 2010.



Capítulo 16

RADIOPROTEÇÃO NA ÁREA BIOMÉDICA

Teresa C S Leal^{1,2}, Alaercio A Oliveira^{1,2}

¹ FACULDADE INSPIRAR– Curitiba/PR

² CEPROMEC, INSPIRAR, FAB e UNINTER– Curitiba/PR.

1. INTRODUÇÃO

Em 8 de Novembro de 1895, o Engenheiro Mecânico e Físico Wilhelm Conrad Röntgen, natural de Wurzburg, na Alemanha, descobriu acidentalmente o fenômeno dos Raios- x ao investigar a passagem de eletricidade através de um tubo com vácuo onde produzia altas descargas de energia num tubo de Crookes. A descoberta dos Raios X de Roentgen revolucionou diversas áreas do conhecimento, principalmente na área da saúde. Com 50 anos de idade na época da descoberta dos raios X, e menos de 50 trabalhos publicados, Roentgen favoritismo pelas propriedades físicas dos cristais e pela física aplicada (em 1878 apresentou um alarme para telefone, e em 1879, um barômetro aneróide). Sobre os raios X publicou apenas três trabalhos. Poucas foram as descobertas científicas que tiveram um impacto de tão grande dimensão no público em geral e na comunidade científica, e que foram divulgadas por todo o mundo de modo tão rápido como a descoberta dos raios-X.

A reprodução das experiências de Röntgen para os mais variados fins, na comunidade científica, o impacto foi grande dado o contexto em que a descoberta ocorreu, e as aplicações que dela poderiam advir. Com isso, na maioria dos laboratórios de Física passou a existir o equipamento essencial para a produção de raios-X, permitindo a confirmação da veracidade dos resultados de Röntgen e a investigação de propriedades adicionais da nova radiação, bem como a realização de radiografias a nível médico. Em maio de 1896, com as possibilidades de aplicação dos raios-X na Medicina, foi criada a primeira revista científica dedicada, exclusivamente, à Radiologia, o “*Archives of Clinical Skiagraphy*” o predecessor de “*Archives of the Röntgen Ray*” (1897-1915), que mais tarde continuou como “*Archives of Radiology*

and Electrotherapy” (1915-1923). Este periódico foi fundado por Sidney Rowland (1872-1917), em Londres, ainda, nessa altura, estudante de Medicina (MESQUITA *et al.*, 2017).

Abaixo a reprodução na Figura 1 obtida pelos raios-X que foi publicada em 1896 na segunda comunicação de Röntgen (Figura 2).

Figura 1. Radiografia da mão da esposa de Wilhelm Conrad.



Fonte: radionuclear.wordpress.com

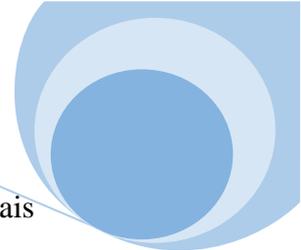
Figura 2. Wilhelm Conrad Roentgen.



Fonte: radiação-médica.com.br

2. RISCO OPERACIONAL

Embora o entusiasmo sobre as investigações no âmbito da Radiologia fosse grande e os resultados fossem bastante promissores, após as primeiras aplicações dos raios-X, até se tornar aparente, foram evidenciadas a toxicidade e os efeitos nocivos da (incorreta) exposição diária à radiação, bem como a necessidade do estabelecimento de medidas de segurança e proteção. Tornou-se claro que uma exposição continuada e excessiva aos raios-X, poderia ser nociva para o Homem e,



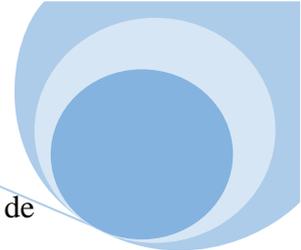
consequentemente, estar na base da origem de uma série de efeitos secundários, tais como queda de cabelo, irritação cutânea, inflamação e dor, bem como o desenvolvimento, a longo prazo, de câncer e de outras condições patológicas. Muitos investigadores observaram algumas alterações na pele, particularmente, nas suas mãos. De modo geral, os pioneiros da Radiologia, não tinham consciência dos perigos da exposição aos raios-X, uma vez que não podiam ser observados, inalados, ouvidos ou sentidos. Para além disso, quaisquer que fossem os efeitos observados decorrentes do seu uso, eram atribuídos a outros fatores. Contudo, longas e repetidas exposições resultaram em danos graves e, muitas vezes, levaram à morte de muitos investigadores no período inicial da Radiologia

A relutância na aceitação dos efeitos nocivos, bem como a dúvida persistente relativamente à possibilidade dos raios-X poderem constituir-se como os agentes causadores de tais danos, terá sido eliminada por Elihu Thomson (1853-1937) ao fim de 1896. Thomson expôs, deliberadamente, a ponta do seu dedo mínimo aos raios-X e verificou, após alguns dias, que o seu dedo ficou inchado, encarnado e dolorido, tendo ocorrido, também a formação de bolhas (BINDA *et al.*, 2018).

Em 1952, a Comissão Internacional de Proteção Radiológica (ICRP) definiu os limites para exposição externa (ICRP, 2002). Foram adotados os limites previamente estabelecidos pelo Canadá, Estados Unidos e Inglaterra, logo após a Segunda Guerra Mundial. Mais recentemente, estes valores foram revistos. Entretanto, nem todos os países adotam os novos limites (FOGAÇA *et al.*, 2017). No Brasil, a Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) é a responsável pelas diretrizes da radioproteção.

3. RADIAÇÃO E BIOMEDICINA

Nos últimos anos, tem aumentado a preocupação com a quantidade de exposição aos quais os pacientes são expostos durante a realização de exames médicos. A radiação tem hoje inúmeras aplicações na saúde, desde a radiologia de diagnóstico e a medicina nuclear até à radioterapia e à investigação biomédica. Neste contexto, é fundamental conhecer os processos de interação da radiação com os tecidos biológicos, as grandezas utilizadas e os princípios básicos de proteção.



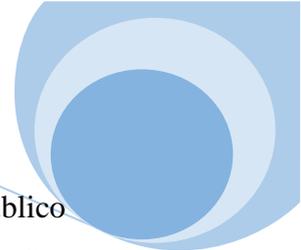
Esta preocupação tem sido observada por entidades de referência na área de saúde no mundo. O princípio de ALARA se baseia no entendimento de que a exposição à radiação pela qual passa o paciente, durante a realização dos exames de imagem, é clinicamente justificável, bem como, os benefícios trazidos ao diagnóstico superarão os riscos da exposição (ESTÉVEZ, 2018).

O profissional, biomédico, além de obedecer aos requisitos legais de licenciamento e funcionamento do estabelecimento, deve seguir os princípios básicos de radioproteção: justificação da prática e das exposições individuais; otimização da proteção radiológica; limitação de doses individuais. O exame radiográfico deve ser indicado e justificado, produzindo assim um benefício real para o paciente, em comparação com o detrimento que possa ser causado pela radiação utilizada para a realização do exame. A otimização da proteção radiológica estabelece o princípio ALARA (*as low as reasonably achievable*), tem como objetivo manter as doses de radiação tão baixas quanto razoavelmente exequíveis, levando em consideração fatores socioeconômicos, além das restrições de doses aplicadas. Este princípio exige dos profissionais a otimização de diversas práticas, como exposições adequadas, seleção de equipamentos, técnicas e interpretação das radiografias, garantindo uma alta qualidade das imagens radiográficas.

4. SISTEMA DE PROTEÇÃO RADIOLÓGICA

O objetivo primário da proteção radiológica é fornecer um padrão apropriado de proteção para o homem, sem limitar os benefícios criados pela aplicação das radiações ionizantes. A proteção radiológica baseia-se em princípios fundamentais e que devem ser sempre observados.

- Justificação: o benefício tem que ser tal que compense o detrimento, que é definido como sendo a relação entre a probabilidade de ocorrência e grau de gravidade do efeito.
- Otimização: o número de pessoas expostas, as doses individuais e a probabilidade de ocorrência de efeitos nocivos devem ser tão baixas quanto razoavelmente exequíveis (Princípio ALARA = *As Low As Reasonably Achievable*).



- Limitação de Dose: a dose individual de trabalhadores e indivíduos do público não deve exceder os limites de dose recomendados excluindo-se as exposições médicas de pacientes.
- Prevenção de acidentes: todo esforço deve ser direcionado no sentido de estabelecer medidas rígidas para a prevenção de acidentes.

O Sistema de Proteção Radiológica consiste em evitar os efeitos determinísticos, uma vez que existe um limiar de dose, manter as doses abaixo do limiar relevante e prevenir os efeitos estocásticos fazendo uso de todos os recursos disponíveis de proteção radiológica. Para efeito de segurança em proteção radiológica, considera-se que os efeitos biológicos produzidos pelas radiações ionizantes sejam CUMULATIVOS.

Para a proteção radiológica de exposições externas considera-se:

- Distância ($1/r^2$). Quanto mais longe da fonte, melhor.
- Tempo. Quanto menos tempo perto da fonte, melhor.
- Blindagem. Quanto mais eficiente for a blindagem, melhor.

4.1. EFEITOS BIOLÓGICOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE

Os efeitos biológicos das radiações estão relacionados em processos físico, químicos e biológicos. Os parâmetros físicos são passíveis de medição, inclusive medição imediata, enquanto os efeitos biológicos somente aparecem após longos períodos de latência. Os efeitos biológicos dependem da transferência de energia dos Raios-X aos tecidos humanos. Esta incidência de energia provoca algum efeito, em maior ou menor grau, sobre o organismo, segundo a quantidade de energia contida nos raios. Sendo assim tais efeitos serão tão mais danosos quanto maior for a frequência de exposição (COSTA *et al.*, 2016). Estes efeitos biológicos da radiação podem ser divididos em 2 grupos: determinísticos e estocásticos (OKUNO, 2018), a saber:

- ✓ Efeitos determinísticos são aqueles que se manifestam nos organismos atingidos após a exposição do mesmo a uma determinada dose, a qual supera

o limiar de regeneração celular. São os efeitos agudos da radiação, tais como: eritema cutâneo induzido por radiação; desenvolvimento de processos fibróticos; catarata induzida por radiação. Tais efeitos possuem um tempo de latência que varia de horas até dias.

- ✓ Efeitos estocásticos quando a probabilidade de surgimento de efeitos biológicos – não o grau de severidade – está em função da dose administrada. Como exemplo pode-se citar os tumores malignos induzidos por radiação e as alterações hereditárias. Os efeitos estocásticos podem apresentar um tempo de latência de vários anos. Os potenciais efeitos estocásticos da radiação ionizante são graves, e para os mesmos não existe uma dose limiar de desencadeamento, a probabilidade de desenvolvimento aumenta com o aumento da dose.

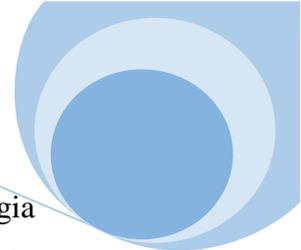
Tabela 1. Ilustra as doses x danos x tempo de sobrevivência

Dose absorvida de corpo inteiro (Gy)	Principal dano que contribui para a morte	Tempo de vida após a exposição (dias)
3-5	Danos na medula óssea	30-60
5-15	Danos gastro-intestinais e pulmonares	10-20
> 15	Danos no SNC	1-5

É importante ressaltar que a extensão das alterações que uma célula experimenta, pela exposição à radiação ionizante, depende fortemente de seu grau de diferenciação e de sua capacidade proliferativa. Tecidos temporários mostram, em comparação com tecidos permanentes, uma sensibilidade maior à radiação.

4.2. UNIDADES DE MEDIDA DE RADIAÇÃO

Para a descrição quantitativa das radiações ionizantes, o biomédico deve ser capaz de definir grandezas físicas que possam ser medidas e relacionadas com danos biológicos. As unidades básicas do Sistema Internacional de Medidas (SI) fornecem a base para a definição dessas grandezas. São elas:



- ✓ Dose Absorvida ou Dose de Energia: define-se como a quantidade de energia transmitida a um determinado elemento de massa irradiado, dividida pela massa do local irradiado. Sua unidade no SI é o Gray ($1\text{Gy} = 1\text{J/kg}$).
- ✓ Dose de Efeito ou Dose Equivalente: é o produto entre a Dose Absorvida no tecido e um fator de conversão (Q), designado como fator de eficiência biológica relativa. Sua unidade no SI é o Sivert ($1\text{Sv} = 1\text{J/kg}$).

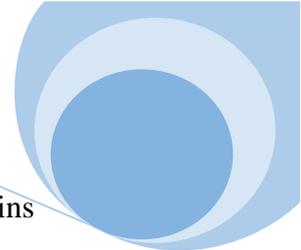
Os efeitos biológicos das radiações ionizantes relacionam-se com a Dose Absorvida e também com a natureza da radiação, sendo que diferentes tipos de radiação podem causar efeitos biológicos nitidamente diferentes com as mesmas doses absorvidas.

Para os diferentes tipos de radiação foram convencionados diferentes valores de Q (fator de qualidade da radiação), para que a dose de equivalência seja proporcional aos riscos da mesma. No caso da radiação X o valor de $Q = 1$, o que resulta assim em Dose de Equivalência e Dose Absorvida numericamente iguais. Entretanto, a Dose de Equivalência não é uma grandeza física da radiação X, e sim uma grandeza biológica da mesma.

O efeito biológico de uma exposição à radiação ionizante e sua avaliação depende de uma série de fatores, como: tamanho da dose e sua distribuição no tempo; ação biológica referente à natureza da radiação; tamanho do campo exposto; sensibilidade dos diferentes tecidos orgânicos; idade da pessoa irradiada. Deste modo é difícil uma clara comparação entre diferentes exposições. Para finalidades de comparação, foi estabelecido, pela Comissão Internacional de Proteção às Radiações (ICPR) o conceito de Dose Efetiva.

- ✓ A Dose Efetiva é expressa em *Sievert* (Sv), e seu valor numérico indica o quão grande uma dose aplicada homogeneamente em todo o corpo deveria ser para desencadear a mesma expectativa de danos inespecíficos que estariam relacionadas com uma dose concreta de radiação

As doses diferenciam-se sobre condições de medição extremamente diferentes, incluindo: diferenças em relação aos aparelhos de raios-X ou tomógrafos utilizados; diferenças entre a sensibilidade dos filmes usados; diferenças em relação à



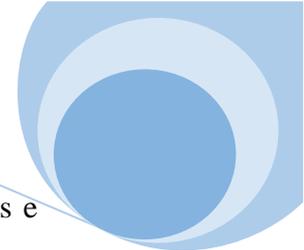
condução das pesquisas (medições na superfície da pele ou medição em manequins de dosimetria); diferenças na avaliação e apresentação dos dados da medição.

No Brasil, apenas em 1998, a Portaria 453 do Ministério da Saúde estabeleceu um conjunto de diretrizes para que os serviços de Radiologia trabalhassem com segurança e qualidade. Essa Portaria estabelece a necessidade de um programa de garantia de qualidade em Radiologia, que requer o atendimento de uma série de itens relacionados com a precisão e constância dos equipamentos geradores de raios X e com os procedimentos de trabalho. As normas técnicas que dispõem sobre o uso de radiação ionizante em radiologia são contidas na Portaria nº 453 da Secretaria de Vigilância Sanitária, a qual regulamenta e disciplina o exercício em radiodiagnóstico médico (BRASIL, 1998). Entretanto a regulamentação brasileira define o limiar de dose para fontes de radiação produzida pelo homem para indivíduos do público (1mSv/ano) e trabalhadores ocupacionalmente expostos (20 mSv/ano).

A limitação de doses individuais corresponde a valores de dose efetiva (ou equivalente) estabelecidos para exposição ocupacional, ou do público, decorrentes dessas práticas, que não devem ser excedidas. Portanto, o dentista deve conduzir suas práticas radiológicas de acordo com os requisitos da Portaria Federal nº 453 e sugestões do NCRP 145 (BRINK & MILLER, 2018) com o objetivo de obter o máximo de benefício no tratamento com um mínimo de exposição ao paciente, assistente e público em geral. Podemos destacar fatores técnicos como blindagens, equipamentos adequados, técnicas radiológicas, câmaras escuras, receptores de imagem e um programa de garantia de qualidade. Além disso, o julgamento do profissional na área (tecnólogos, médicos, biomédicos) e em prescrever/realizar exames radiológicos e a interpretação de resultados é considerado um dos fatores mais importantes nas práticas realizadas. Diante do exposto e da importância do assunto para a saúde de pacientes e profissionais envolvidos na realização de exames radiográficos, julga-se necessário o desenvolvimento de pesquisas na área para que se verifique e capacite cada vez mais estes profissionais.

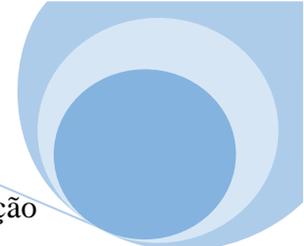
4.3. RISCO OCUPACIONAL

O cenário atual em hospitais, clínicas e assemelhados mostram que, deve existir esforços em investimento para o aprimoramento de profissionais, processos e



equipamentos, para prevenir o surgimento de lesões e enfermidades ocupacionais e de impactos ambientais também causadores de doenças ou outros danos. Em tais locais de trabalho são encontrados diversos tipos de riscos. No serviço de diagnóstico por imagem, um dos mais importantes instrumentos de apoio a inúmeras áreas da medicina pode-se observar atos inseguros e condições ambientais de insegurança, dentre eles: preparação e manuseio de soluções tóxicas sem utilização de equipamento de proteção individual (EPI); manuseio do pacientes sem utilização de EPI; trabalhadores e pacientes em ambientes onde há periculosidade, resultante da detecção de níveis de radiações ionizantes acima dos limites estabelecidos por lei; trabalhadores em ambientes com ventilação inadequada; aspectos ergonômicos no local de trabalho em desacordo com as normas regulamentadoras; equipamentos defeituosos ou mal calibrados em operação, com consequentes riscos a trabalhadores e pacientes; salas com móveis, equipamentos e acessórios localizados inconvenientemente à segurança do trabalhador e à sua satisfação para realização de tarefas. Todos esses aspectos estão relacionados à biossegurança, que é o conjunto de ações voltadas para a prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisas, produção, ensino, e desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços, tendo por finalidade a saúde do homem e dos animais, a preservação do meio ambiente e a qualidade dos resultados (TAUHATA *et al.*, 2014).

Para Vigilância Sanitária (VISA), cujo principal objetivo é garantir a segurança sanitária de produtos e serviços oferecidos à população, o gerenciamento de risco é o foco principal de suas ações. A noção de risco, além dos conceitos da epidemiologia, incorpora alguns atributos que a qualificam segundo dois critérios: risco adquirido e risco inerente ou potencial, risco adquirido está associado à estrutura, práticas ou produtos que não teriam um risco em si, mas que devido a incorreções em seu processo de produção, podem vir a provocar doenças ou eventos adversos. O risco inerente ou potencial se refere a condições de perigo próprias de determinadas tecnologias. Portanto existe um risco permanente, que vai da sua escolha até o seu uso na assistência, que deve ser controlado para que esteja dentro de limites. Os riscos são uma constante em qualquer processo complexo, como o que ocorre em saúde, porém erros nem sempre levam a danos, mas podem ser considerados eventos sentinela. Os danos acontecem quando vários erros se sobrepõem. A segurança pode ser obtida com o estabelecimento de boas práticas,



atuando no conhecimento dos eventos, na redução dos efeitos e na sua prevenção (QUEIROZ, 2018).

O biomonitoramento de áreas controladas ou supervisionadas é uma alternativa e já vem tendo grande relevância para a avaliação dos efeitos mutagênicos em baixas taxas de doses sobre o meio ambiente, e conseqüentemente para a saúde humana. O uso de Biosensores vem ganhando aplicações práticas e dando oportunidade de estudos na área demonstrado uma ótima relação (LEAL *et al.*, 2020).

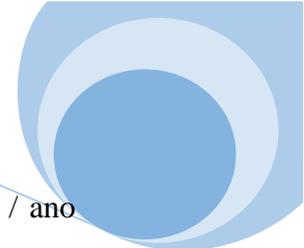
4.4. RADIOATIVIDADE E SAÚDE

Muito do que se sabe sobre o efeito da radiação sobre a saúde humana veio de estudos terapêuticos (radioatividade medicinal), dos sobreviventes de bombardeios nucleares (Japão) e de acidentes como o de Chernobyl (Rússia). Estes estudos permitiram avaliar o grau de comprometimento de tecidos e órgãos, expostos a diferentes níveis e tipos de radiação. Na Tabela 2 encontra-se, resumidamente, a correlação entre doses de radiação e seus efeitos na saúde.

Tabela 2.Dose x Efeito

Dose (rem)	Efeito
250 - 1000	Dosagem de 1000 rem: DL (dose letal) de 100%. Dosagem de 250 rem: DL 50%. Dose intermediária: diarréias, vômitos, hemorragias, queimaduras na pele, danos na medula óssea, desenvolvimento de tumores, mutações genéticas, entre outros efeitos. Estes são proporcionais ao nível de radiação ao qual o indivíduo foi exposto.
↓ 250	São observados os mesmos efeitos das doses mais altas, Porém, com menor intensidade. Dosagem de 200 rem: DL 100% para embriões e fetos.
Doses baixas (5 rem)	Assintomático. Pessoas sensíveis apresentam enjôo. Há riscos de desenvolvimento de tumores, mutações e envelhecimento precoce.

É importante salientar que a forma como um indivíduo reage a uma exposição radioativa é influenciada por vários fatores (idade, predisposição genética, tempo de exposição, estágio fisiológico etc).



Com base em estudos foram estimados os limites máximos de exposição / ano para diferentes porções do corpo. Na Tabela 3, estão os limites recomendados pela ICRP.

Tabela 3. Limites máximos de exposição / ano para diferentes porções do corpo.

Dose (rem)	Efeito
5	Corpo todo, gônadas, medula óssea
30	Ossos, pele e tireóide
75	Mãos, braços, pernas e pés
15	Demais partes do corpo

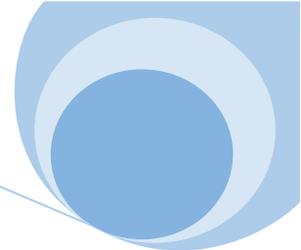
Estes limites foram revistos recentemente, porém nem todos os países (inclusive o Brasil) aplicam os novos limites, os quais são menores. Em nosso país, os limites estão fixados em norma estabelecida pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN). Para o pleno entendimento das quantificações empregadas na manipulação de material radioativo e em radioproteção, faz-se necessário observar as definições e unidades empregadas nas grandezas abaixo, bem como suas relações.

5. O BIOMÉDICO NA ÁREA DA IMAGENOLOGIA

O biomédico que escolher a habilitação em Imagenologia poderá atuar em diversos segmentos da área, tais como: tomografia computadorizada, ressonância magnética, medicina nuclear, radioterapia, ultrassonografia e radiologia médica, sendo excluída a interpretação dos laudos. No momento, os setores mais importantes entre esses são a tomografia computadorizada e a ressonância magnética, onde o biomédico poderá atuar na operação de equipamentos, no desenvolvimento de protocolos de estudo e exame, desenvolvimento de novas técnicas, além de coordenar grupos de colaboradores e a administração e gestão de conteúdo e contingente dos setores.

O biomédico poderá operar equipamentos de Medicina, PET/CT e PET/RM, realizar estudos “*in vivo*” e “*in vitro*” e auxiliar o médico nos procedimentos terapêuticos, definir protocolos de exame. Pode ainda realizar os procedimentos da radiofarmácia, como: solicitação e controle de estoque dos reagentes liofilizados,

radioisótopos e demais insumos para a radiofarmácia; preparação e controle de qualidade dos geradores e radiofármacos marcados no setor; identificação, rotulagem e rastreabilidade dos radiofármacos e radioisótopos; preparação das doses individuais, realizar a administração dos radiofármacos seguindo os protocolos estabelecidos para cada exame e a orientação do médico nuclear. Além disso, pode realizar entrevista e análise prévia do paciente, atuar no pós-processamento de imagens, documentar exames, gerenciar sistemas de armazenamento de informação, atuar nas diversas atualizações tecnológicas disponíveis e atuar no segmento de informática médica. Por tudo isso é fundamental que o biomédico conheça as normas e procedimentos de segurança em relação a Radiação Ionizante e seja capacitado periodicamente.



6. REFERÊNCIAS

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria do nº 453, Diretrizes de proteção radiológica em radiodiagnóstico médico e odontológico, de 1 de junho de 1998. Publicada em Diário Oficial da União em 02/06/1998.

BRASIL. CNEN - Comissão Nacional de Energia Nuclear, CNEN-NN-3.01, Diretrizes básicas de proteção radiológica. Portaria CNEN/PR 007 de 17/01/2006 (Alterações). Publicada em Diário Oficial da União em 18/01/2006.

BINDA M. C. Historia de la Radiología. Revista Argentina de Radiología/Argentinian Journal of Radiology, v. 82, n. 01, p. 053-054, 2018.

BRINK J. A.; MILLER D. L. NCRP program area committee 4: radiation protection in medicine. Health Physics, v. 114, n. 2, p. 251-253, 2018.

ESTÉVEZ E. R. Dosimetría radiológica. Edifarm, 2018.

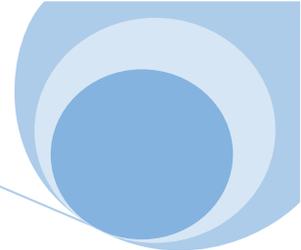
FOGAÇA J. L.; *et al.* Principais métodos de radioproteção para profissionais atuantes em medicina nuclear. In: VI JORNACITEC-Jornada Científica e Tecnológica. 2017.

ICRP - International Commission on Radiological Protection. Recommendations of the International Commission on Radiological Protection, ICRP Publication 60, Pergamon Press, New York, 2002.

LEAL T.C.; *et al.* Evaluation of mutagenic effects in a bioindicator from the radiation dose rates exposed in radiological clinics. International Journal of Bioinformatics and Computational Biology, v. 5, n. 1, p. 8-14, 2020.

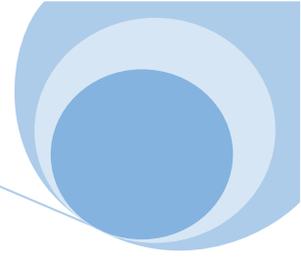
MESQUITA A. Z.; *et al.* Disciplina: história da ciência–tecnologia nuclear, contribuição para a formação dos estudantes de pós-graduação em Engenharia. 2017.

OKUNO E. Radiação: efeitos, riscos e benefícios. Oficina de Textos, 2018.



QUEIROZ D. M. Blaise Pascal (1623-1662), um humano:(re) interpretações com vistas à formação inicial de professores de física. Dissertação de Mestrado, UFRN, 2018.

TAUHATA L.; *et. al.* Radioproteção e dosimetria: fundamentos. IRD/CNEN, 10^a revisão, Rio de Janeiro, 2014.



Capítulo 17

IMPORTÂNCIA DAS ESTRATÉGIAS DE CONTROLE VETORIAL PARA COMBATE E PREVENÇÃO DO MOSQUITO *Aedes Aegypti* EM NOVO HAMBURGO – RIO GRANDE DO SUL

Tiago S Carvalho¹, Júlia R Schuch², Fabiana T De S Hack², Paulo H Schneider³

¹Biomédico, Universidade Feevale, Novo Hamburgo/ RS.

²Biomédica, Universidade Feevale, Novo Hamburgo/ RS.

³Biólogo, Universidade Feevale, Novo Hamburgo/ RS.

1. INTRODUÇÃO

As arboviroses, doenças virais como dengue, febre amarela, chikungunya e zika, transmitidas por artrópodes, vêm apresentando crescente risco para a população global, com expansão de regiões geográficas afetadas, causando surtos de doenças em muitas populações urbanas (KRAEMER *et al.*, 2019).

Dentre tais arboviroses, a que mais se destaca atualmente é a dengue, por afetar diretamente o homem e constituir sério problema de saúde pública no mundo (BRASIL, 2002; FLORES, 2017), tendo sido eleita, em 2018, uma das dez ameaças para a saúde humana pela Organização Mundial de Saúde na 71ª Assembleia Mundial da Saúde. A partir da definição de tais ameaças, foi desenvolvido o programa geral de trabalho para os anos 2019-2023, definindo planos de ação e metas para controle destes riscos mundiais, incluindo tal arbovirose (WHO, 2018).

A dengue é uma doença febril aguda, de evolução benigna na forma clássica, variando com a ocorrência de uma síndrome grave e potencialmente fatal de permeabilidade vascular quando se apresenta na forma hemorrágica, podendo evoluir para o óbito (BRASIL, 2016). De etiologia viral, causada por um vírus do gênero Flavivírus, atualmente, com quatro sorotipos identificados: DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4, sendo que em uma epidemia pode ocorrer a co-circulação de diferentes



sorotipos e a infecção por um tipo não confere imunidade vitalícia para outro, apenas imunidade transitória (CASTRO *et al.*, 2017; GUZMAN *et al.*, 2016; WHO 2009).

No Brasil, segundo o Boletim Epidemiológico 05 da Secretaria de Vigilância em Saúde, houve um aumento alarmante no número de casos de dengue registrados nas 05 primeiras Semanas Epidemiológicas de 2019 quando comparados ao mesmo período de 2018, passando de 21.992 em 2018 para 54.777 casos prováveis da doença em 2019, havendo, quanto à incidência da doença em 2019, ocorrência de 26,3 casos por 100 mil habitantes, com 5 óbitos só no primeiro mês de 2019 contra 23 em todo o ano de 2018 (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO, 2019).

Ao comparar os dados referentes aos meses de janeiro de 2019 e de 2020, no presente ano foram notificados 94.149 casos prováveis (taxa de incidência de 44,80 casos por 100 mil habitantes) de dengue no país, havendo aumento de aproximadamente 72% no número de casos, com maior incidência na região Centro-Oeste, seguida das regiões Sul, Sudeste, Norte e Nordeste, havendo destaque especial para o Paraná, além do Acre e Mato Grosso do Sul, com incidência acima de 200 casos por 100 mil habitantes (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO, 2020).

A transmissão da dengue ocorre a partir da sucção, pelo mosquito fêmea, de sangue de alguém doente na fase de viremia, em que o indivíduo apresenta partículas virais em seu sangue, tornando o mosquito infectado. Entre 4 a 12 dias após, tais partículas virais se disseminam pelo vetor, multiplicando-se e invadindo suas glândulas salivares, tornando o mosquito infectivo, o que lhe confere capacidade de transmitir a doença ao picar outros indivíduos sadios. Além disso, a fêmea é capaz de fazer a transmissão do vírus para a sua prole, favorecendo a disseminação da doença. (DIAS *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2015).

Depois que ocorre a inoculação no hospedeiro humano, o vírus se replica principalmente nas células de linhagem monocítica-macrofágica dos órgãos linfóides, pulmonares e hepáticos, produz seus progenitores, inicia a fase de viremia e se dissemina pelo organismo. O vírus não é transmitido pelo contato direto com o doente ou com suas secreções (DIAS *et al.*, 2010; BRASIL, 2002).

Tal transmissão depende, com poucas exceções, da presença dos vetores de mosquitos competentes do gênero *Aedes*, como o *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. Ambas são espécies exóticas importantes que chegaram ao continente americano após desenvolverem, em seus ambientes primários, grau significativo de sinantropia a partir de alterações ecológicas e processos de urbanização (BRAGA & VALLE, 2007).

O principal vetor da dengue no Brasil é o *Aedes aegypti*, representado na Figura 1, caracterizado por sua coloração preta com manchas brancas ao longo do dorso, pernas e cabeça, este vetor apresenta hábito diurno e tem preferência por ambientes urbanos e intradomiciliares. Sua proliferação ocorre após a ovopostura que é realizada pela fêmea em coleções de água parada. Após a ovopostura e em condições climáticas favoráveis, dentro de 4 a 10 dias há a circulação de novos mosquitos adultos (BRASIL, 2002; DIAS *et al.*, 2010).

Figura 1. Mosquito *Aedes aegypti*.



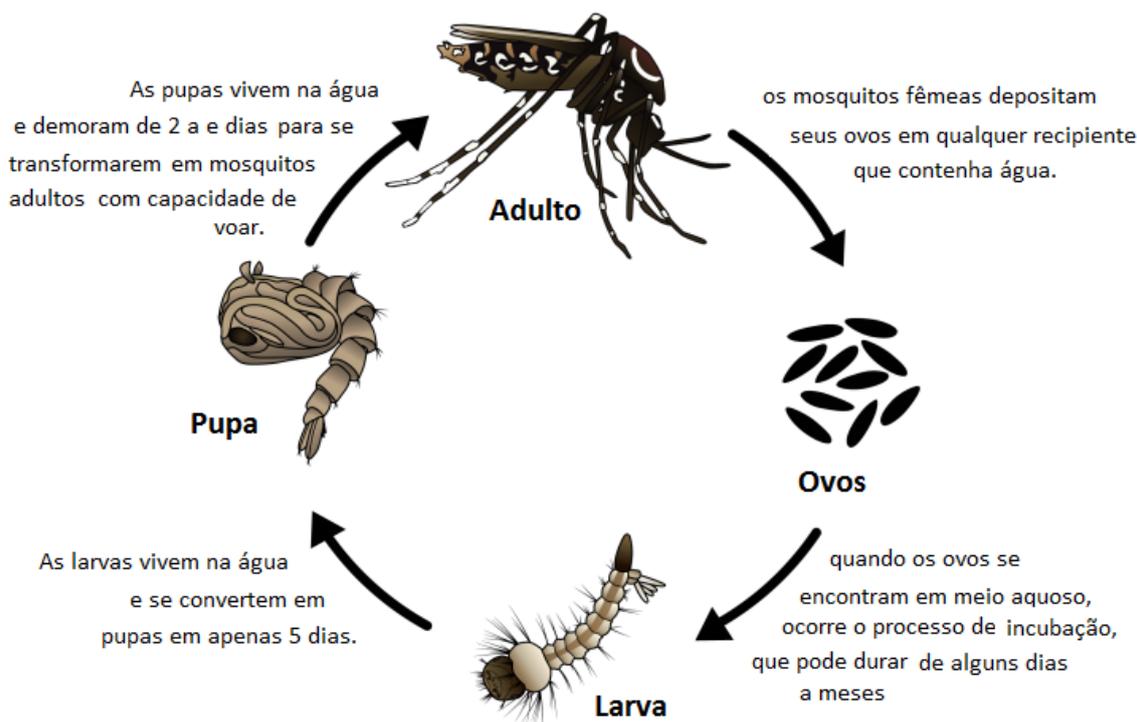
Fonte: CEVS, 2019.

Os mosquitos são holometábolos - sofrem metamorfose completa. O estágio imaturo do *Aedes* requer sete dias para emergência do adulto em ambientes tropicais. No seu ciclo de vida, o *Aedes* apresenta quatro fases: ovo, larva, pupa e adulto, conforme Figura 2. O mosquito adulto vive, em média, de 30 a 35 dias. A sua fêmea põe ovos de 4 a 6 vezes durante sua vida e, em cada vez, cerca de 100 ovos, em locais com água limpa e parada. A oviposição ocorre em ambiente úmido, sendo que um ovo do *Aedes aegypti* pode sobreviver por até 450 dias mesmo que o local onde ele foi depositado fique seco. Se esse recipiente receber água novamente, o ovo volta a ficar ativo, podendo seguir sua evolução até a fase adulta. Ao não encontrar criadouros, a fêmea do *Aedes aegypti*, em casos excepcionais, pode voar a grandes distâncias em busca de outros locais para depositar seus ovos (BRASIL, 2008).

O *Aedes aegypti* é originário da África, e atualmente tem distribuição mundial. Com hábitos diurnos em que se alimenta e deposita seus ovos preferencialmente ao amanhecer e período vespertino próximo ao crepúsculo, é um mosquito recorrente em ambiente urbano, onde há mais frequentemente recipientes propícios para a sua

proliferação, como tanques de armazenamento de água e vasilhames temporários, dentro e fora das casas, como potes, barris, pneumáticos usados, latas, garrafas e vasos de plantas, além de calhas de telhado, folhagens, bambus cortados, bromélias – em que ocorre o desenvolvimento de sua fase larvária (BRAGA & VALLE, 2007).

Figura 2. Ciclo de vida do mosquito *Aedes aegypti*



Fonte: FIOCRUZ, 2019.

2. CONTROLE VETORIAL

Constituindo crescente problema de saúde pública mundial principalmente pelo potencial de dispersão, pela capacidade de adaptação a novos ambientes e hospedeiros (vertebrados e invertebrados), pela possibilidade de causar epidemias extensas, pela susceptibilidade universal e pela ocorrência de grande número de casos graves, o enfrentamento de arboviroses exige políticas e intervenções de amplo espectro, envolvendo vários setores da sociedade (DONALISIO *et al.*, 2017).

As mudanças climáticas, desmatamentos, urbanização desorganizada, ausência de água e saneamento básico e deslocamentos populacionais, além do potencial de adaptação dos mosquitos às alterações ambientais, bem como crescente trânsito de pessoas e cargas, possibilitando o transporte do vetor entre regiões têm tornado o controle vetorial desafiador, exigindo cada vez mais investimentos em ações de



vigilância epidemiológica, virológica e vetorial, com desenvolvimento de estratégias para tal enfrentamento (BRASIL, 2002; BRASIL, 2009; DONALISIO *et al.*, 2017)

Para o controle do vetor *Aedes aegypti* podem ser utilizadas formas mecânicas, biológicas ou químicas, sendo:

- Controle químico: consiste no uso de substâncias, orgânicas ou inorgânicas, de origem natural ou sintética. Entre as categorias utilizadas encontramos os desinfetantes, formulações que têm na sua composição substâncias microbidas e apresentam efeito letal para microrganismos não esporulados.

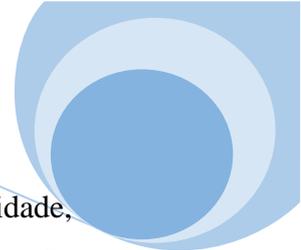
- Controle biológico: consiste na repressão do vetor utilizando inimigos naturais e pode ser feito utilizando peixes que se alimentam de larvas do mosquito. Os produtos biológicos são constituídos por microrganismos viáveis para o tratamento de sistemas sépticos e tubulações sanitárias de águas servidas, e para outros locais com a finalidade de degradar matéria orgânica e reduzir odores. *Bacillus turighiensis israelenses* (BTI) são considerados inseticidas biológicos, aprovados para uso em água de consumo humano, desde que utilizado na dosagem correta.

- Controle mecânico: consiste na destruição dos depósitos, ou na sua alteração, impedindo o acúmulo de água – como, por exemplo, furar pneus. A destinação correta do lixo, a instalação de telas em portas e janelas e o fechamento de caixas d'água também são considerados controles mecânicos de possíveis criadouros (BRAGA & VALLE, 2007; UFRGS, 2016).

Conforme as Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue, as ações de vigilância epidemiológica em período não epidêmico visam detectar precocemente a circulação viral, aglomerados de casos e focos do vetor (vigilância entomológica), debelá-los em tempo hábil, fazer a investigação de casos suspeitos de acordo com as rotinas preconizadas e adotar as medidas de prevenção e controle (BRASIL, 2009).

Diversos fatores são determinantes na manutenção e dispersão tanto da dengue quanto de seu principal vetor, o *Aedes aegypti*, tornando tal controle bastante complexo, por isso, é essencial que o enfrentamento da dengue envolva diferentes setores, responsabilizando não só gestores, órgãos e serviços públicos e privados, como a participação ativa da sociedade (BRASIL, 2009)

Por tal diversidade de fatores determinantes, o controle vetorial faz-se tarefa complexa, têm sido reforçadas a recomendação de implementar estratégias envolvendo poder público e sociedade, colocando-a como parte ativa essencial. Ao descentralizar as



ações de controle e prevenção da dengue, estas passam a ter maior sustentabilidade, constituindo-se de medidas simples e eficazes direcionadas principalmente na remoção de criadouros, atividades práticas e que devem ser inseridas no cotidiano da população, como medida de controle físico (DONALISIO & GLASSER, 2002).

3. CONTROLE VETORIAL NO MUNICÍPIO DE NOVO HAMBURGO – RIO GRANDE DO SUL

Entendendo que o controle vetorial é uma ação de responsabilidade coletiva e que deve envolver a comunidade em geral, no município de Novo Hamburgo, Rio Grande do Sul, desde 2009 a Universidade Feevale, em parceria com a Prefeitura Municipal, conduz o Convênio de Combate e Prevenção à Dengue, com ações que abrangem tanto visitas domiciliares e de pontos estratégicos para eliminação e tratamento de depósitos com água acumulada a fim de evitar possíveis focos e registrar índices de infestação, além de orientar os munícipes quanto à prevenção da proliferação dos insetos.

Para tal, são formadas equipes de agentes de combate e prevenção da dengue, que, após organização de itinerário e período, percorrem todo o município, fazendo as atividades, segundo as Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue para os agentes comunitários de endemias, entre elas:

- Atualização de cadastro de imóveis e pontos estratégicos (PE), que são aqueles em que, por sua atividade ou característica, pressupõe-se haver maior quantidade de focos de vetores, como cemitérios, mecânicas, floriculturas, borracharias, ferros-velhos entre outros;

- Realizar a pesquisa larvária em imóveis, para levantamento de índices e descobrimento de focos, bem como colocação de armadilhas;

- Identificar criadouros com formas imaturas do mosquito, orientando moradores e responsáveis para a eliminação e/ou proteção destes;

- Executar, quando indicado, a aplicação de larvicidas, vistoriando e tratando imóveis cadastrados para tal ação, bem como vistoriar imóveis de difícil acesso;

- Registrar informações referentes às atividades executadas, aos dados obtidos, bem como imóveis acessados, comunicando aos supervisores possíveis obstáculos para visitas domiciliares;



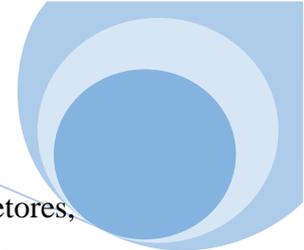
- Atuar, junto aos domicílios, como propagadores de informação, informando moradores acerca da doença, sintomas, riscos, o mosquito e medidas de prevenção, alertando para a importância de todos em tal controle;

Entre as funções dos agentes está também a pesquisa larvária, gerando o Levantamento de Índice Amostral (LIA), em uma determinada amostra de imóveis do município, que permitam apresentar significância estatística dos tipos de larvas que infestam o município, sendo, atualmente, o mosquito *Aedes aegypti* o principal vetor em Novo Hamburgo, RS.

Faz-se também o Levantamento de Índice Rápido para *Aedes aegypti* (LIRAA), que visa fornecer informações entomológicas em um ponto no tempo (antes do início do verão) antecedendo o período de maior transmissão. Trata-se, fundamentalmente, de um método de amostragem que tem como objetivo principal a obtenção de indicadores entomológicos, de maneira rápida, permitindo o fortalecimento das ações de combate vetorial nas áreas de maior risco.

A partir do trabalho organizado pelo Projeto de combate e prevenção à dengue, organizado pela Universidade Feevale, ao final de cada mês/semanas epidemiológicas, é gerado um relatório da quantidade de bairros/imóveis trabalhados, focos do vetor e tipos de vetores encontrados. Tais dados são enviados ao serviço de vigilância municipal, que os utiliza para propor estratégias, analisar a realidade do município quanto à infestação e definir locais em que as ações precisam ser desenvolvidas com maior atenção.

Além disso, tais relatórios fornecidos nestes 10 anos de parceria entre a Universidade e a Prefeitura Municipal de Novo Hamburgo servem como base de dados para analisar a realidade vetorial e suas alterações, adaptações e evolução do trabalho da equipe de controle vetorial. Por exemplo, ao comparar os dados obtidos nos primeiros semestres dos anos 2018 e 2019 quanto à quantidade de bairros, imóveis e focos encontrados, a fim de conhecer a realidade do município frente à ocorrência do mosquito nestes períodos, pode-se observar que a média de bairros trabalhados entre janeiro a junho de 2019 foi de 56, enquanto que no mesmo período de 2018, trabalhou-se 25 bairros. Todavia, o índice de imóveis vistoriados aumentou em 62%. Quanto aos focos de mosquitos encontrados, a média de imóveis em 2018 foi de 191 (3,9%), enquanto em 2019, foi de 749 (9,5%) imóveis. Pode-se concluir que apesar de se ter trabalhado um menor número de bairros em 2019, o número de focos encontrados apresentou um acréscimo de 191 para 749 imóveis.



Tal resultado pode sugerir que, além do aumento da proliferação dos vetores, existam bairros críticos no município, concentrando um grande número de focos. Possivelmente, tais bairros possuem regiões desfavorecidas economicamente, com pouca estrutura habitacional, sanitária e de coleta de lixo, além de apresentarem grande número de pontos estratégicos, o que reforça a importância de analisar os dados de cada bairro, determinando pontos em que se necessitam intensificar os trabalhos para maior controle do mosquito.

Outro ponto importante do trabalho dos agentes de combate e prevenção da dengue é a execução da pesquisa vetorial especial (PVE). Levando-se em consideração que a transmissão do vírus se dá a partir da sucção do sangue infectado pelo mosquito fêmea, que se torna infectiva de alta quantidade de indivíduos. Ao ocorrer um caso suspeito em determinada região do município, os agentes devem visitar 100% dos imóveis em um raio de até 300 metros do local onde a pessoa suspeita de infecção por vírus da dengue, zika ou chikungunya se encontrava, tendo por objetivo eliminar a possibilidade de contato do mosquito com o doente através da eliminação de depósitos e criadouros de possíveis vetores.

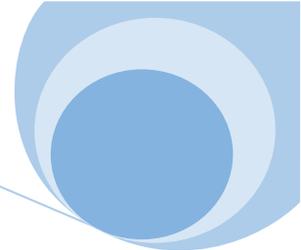
Novamente, pode-se levantar a importância do levantamento e análise dos dados fornecidos, visto que, ao analisar dados referentes às pesquisas vetoriais especiais (PVE) ocorridas entre os anos de 2017 e 2019, observou-se que, em 2017 foram realizadas 34 vistorias deste tipo, contra 43 pesquisas vistoriais especiais em 2019. Em contrapartida, em 2017, 9068 imóveis foram inspecionados durante as PVEs, enquanto em 2019, foram 7526 imóveis trabalhados nesta modalidade de pesquisa vetorial, destacando um aumento de 28% de visitas em 2019, com uma queda de 18% de imóveis trabalhados. Tais resultados podem refletir uma alteração nas zonas de ocorrência de casos de dengue, zika ou chikungunya no município, tendo sido menos casos em 2017, porém em zonas com maior densidade habitacional. Atenta-se também para o aumento na ocorrência de casos suspeitos da doença na cidade entre os anos analisados.

No município de Novo Hamburgo, até a Semana Epidemiológica 09 de 2020 (até 27 de fevereiro do presente ano), houve registro de 02 casos de dengue autóctone, adquirida na própria localidade, sendo o município considerado infestado pelo mosquito *Aedes aegypti*. Em uma série histórica de 2000 até 2020, observa-se, no RS, um aumento significativo no número de município infestado pelo veto, partindo de 14 municípios para 377 em 2020 (CEVS/RS, 2020).



Todos os dados apresentados reforçam a atenção que deve ser dada à questão de controle vetorial e prevenção de arboviroses no Brasil e no mundo. As ações não devem se restringir apenas ao setor saúde, e sim, devem contar com o envolvimento dos setores de planejamento habitacional e de desenvolvimento dos municípios, de abastecimento de água e de coleta de resíduos sólidos, além de investimento em educação em saúde, dando suporte para as ações de controle da dengue promovidos pelos setores de vigilância epidemiológica e entomológica, de modo a potencializar o trabalho dos agentes comunitários de saúde e de controle e prevenção da dengue.

O exemplo de estratégia de controle vetorial citado neste capítulo elucida a importância da gestão eficaz da problemática das arboviroses e infestação de vetores, com o desenvolvimento de projetos e parcerias que, através de boa gestão de pessoal, informações e investimentos, auxiliem na divisão das responsabilidades quanto às medidas tomadas para o enfrentamento dessa realidade tão complexa. Além disso, é gerado um alerta para a inclusão dos indivíduos do município como agentes participativos e essenciais no controle físico dos vetores, a partir da educação para ações de mudança cotidiana contínua e conscientização destes quanto ao seu papel determinante na mudança da situação atual tão complexa e preocupante que é o crescimento exponencial no número de casos de arboviroses no país.



4. REFERÊNCIAS

BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. Volume 50, n. 05, Fev. 2019. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2019/fevereiro/26/2019-004-Dengue-SE-5-publica---o-18-02-2019.pdf>. Acesso em mar/2020.

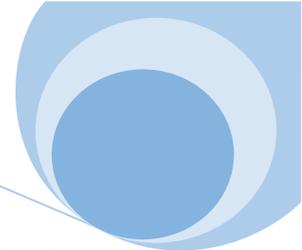
BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. Volume 51, n. 07, Fev. 2020. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2020/fevereiro/19/Boletim-epidemiologico-SVS-07.pdf>. Acesso em mar/2020.

BRAGA I.Q.; VALLE D. *Aedes Aegypti*: Insecticides, Mechanisms of Action and Resistance. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 16, n. 4, p. 279-293, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Dengue: aspectos epidemiológicos, diagnóstico e tratamento / Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde. – Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2002. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/dengue_aspecto_epidemiologicos_diagnostico_tratamento.pdf. Acesso em: mar/2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Vigilância em Saúde: Dengue, Esquistossomose, Hanseníase, Malária, Tracoma e Tuberculose / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção a Saúde, Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde, ed. revisada 2, n. 21, p. 197, 2008. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cab_n21_vigilancia_saude_2ed_p1.pdf. Acesso em: mar/2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, p. 160, 2009. Disponível



em:

https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_nacionais_prevencao_controle_dengue.pdf. Acesso em: mar/2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Dengue: diagnóstico e manejo clínico: adulto e criança [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – 5. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, ed. 5, p. 58, 2016. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2016/janeiro/14/dengue-manejo-adulto-crianca-5d.pdf>. Acesso em: mar/2020.

CASTRO M. C.; *et al.* Disease and economic burdens of dengue. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 17, n. 3, p. e70–e78, 2017.

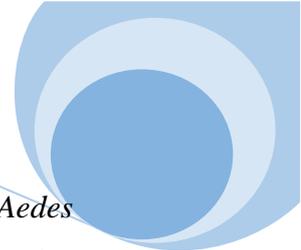
CEVS/RS – Centro Estadual de Vigilância Sanitária. Novo caso de dengue é registrado na região Noroeste do Estado. Notícias. 2019. Disponível em: <https://www.cevs.rs.gov.br/novo-caso-de-dengue-e-registrado-na-regiao-noroeste-do-estado>. Acesso em mar/2020.

CEVS/RS – Centro Estadual de Vigilância em Saúde/RS. Informativo Epidemiológico de Arboviroses. Semana Epidemiológica 09 (23/02 a 27/02). Dengue. 2020. Disponível em: <https://saude.rs.gov.br/upload/arquivos/202003/02140435-informativo-epidemiologico-dengue-chik-zika-e-fa-se-09-2020.pdf>. Acesso em mar/2020.

DIAS L. B.; *et al.* Dengue: transmissão, aspectos clínicos, diagnóstico e tratamento. *Medicina*, v. 43, n. 2, 2010.

DONALISIO M. R.; *et al.* Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a clínica e implicações para a saúde pública. *Revista de Saúde Pública*, v.51, 2017.

DONALÍSIO M.R.; GLASSER C.M. Vigilância entomológica e controle de vetores do dengue. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 5, n. 3, 2002.



FIOCRUZ – Fundação Osvaldo Cruz. Como é o ciclo de vida do mosquito '*Aedes aegypti*'?. 2019. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/pergunta/como-e-o-ciclo-de-vida-do-mosquito-aedes-aegypti>. Acesso em: mar/2020.

FLORES E. F. Virologia veterinária. Santa Maria: UFSM. p. 1–1133, 2017.

GUZMAN M. G.; *et al.* Dengue infection. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 2, p. 16055, 2016.

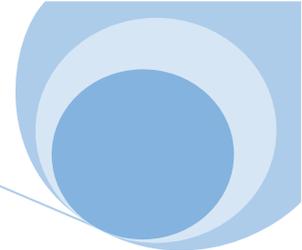
KRAEMER M.U.G.; *et al.* Propagação passada e futura dos vetores de arbovírus *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. *Nature Microbiology*, v. 4, p. 854–863, 2019.

SILVA V. B.; *et al.* Estratégias de combate à dengue através da educação em saúde: uma revisão integrativa. *Saúde*, v. 41, p. 27–34, 2015.

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do SUL / TESSSAÚDE RS. Orientações para enfrentamento ao vetor *Aedes aegypti*. Porto Alegre: Telessaúde RS/UFRGS, 2016. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/rscontraaedes/>. Acesso em: mar/2020.

WHO - World Health Organization. Dengue: Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. 2009.

WHO – World Health Organization. Thirteenth general programme of work 2019–2023. 2018. Disponível em: <http://www9.who.int/about/what-we-do/gpw-thirteen-consultation/en/>. Acesso em: mar/2020.



Capítulo 18

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA PROVENIENTE DE ESCOLAS LOCALIZADAS NA REGIÃO METROPOLITANA DE BELÉM – PARÁ

Vitória BJ Viana¹, Karla TS Ribeiro¹

¹Biomédica, Universidade Federal do Pará, Belém/PA.

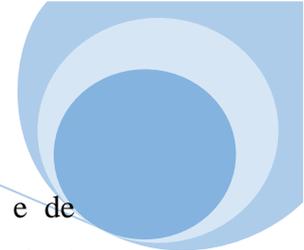
1. INTRODUÇÃO

A água é o bem natural mais importante do planeta e um elemento indispensável à manutenção da vida. Sua utilização está presente, direta ou indiretamente em diversas atividades do dia a dia, como na indústria agrícola, na geração de energia elétrica e, especialmente, para abastecimento, enfatizando o consumo pelos seres vivos para a manutenção de seus processos metabólicos (SOUZA *et al.*, 2014).

De acordo com a Lei Nº 9.433, de 8 de janeiro de 1997, que dentre outros atos instituiu a Política Nacional de Recursos Hídricos e criou o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos, a água é um recurso limitado, que em situações de escassez deve ser destinada, prioritariamente, para abastecimento humano (uso doméstico, residencial e comercial/serviços) e dessedentação de animais (BRASIL, 1997).

Segundo dados apresentados pela Organização das Nações Unidas estimam-se que cerca de um bilhão de pessoas não têm acesso a um abastecimento de água suficiente (ONU, 2018). No Brasil, a problemática maior está relacionada a discrepância na disponibilidade desse recurso natural, o que confere uma falsa impressão de “inesgotabilidade” em certas localidades.

No Pará, ainda há um agravante relacionado ao abastecimento oferecido pela Companhia de Saneamento do Pará, a qual atualmente cobre somente 9 vilas e 53 dos 144 municípios do estado, estando as outras localidades sob operação municipal



(COSANPA, 2019). Sendo assim, por efeito da falta de tratamento da água e de sistemas de abastecimento confiáveis em mais da metade dos municípios, o resultado é uma precária disponibilidade de água potável à população paraense (BRASIL, 2010).

No ambiente escolar, em particular, local onde os estudantes e servidores permanecem por várias horas do dia, há grande demanda por água para ingestão e no preparo dos alimentos. Por conseguinte, a água ofertada nesses estabelecimentos necessita estar de acordo com o padrão de potabilidade recomendado pela legislação do Ministério da Saúde, o que, por vezes, não é seguido devidamente (TRINDADE *et al.*, 2015; PERREIRA & OLIVEIRA, 2017).

Para ser considerada potável, a água deve atender aos parâmetros de potabilidade estabelecidos no Anexo XX da Portaria de Consolidação Nº 5/2017 do Ministério da Saúde, e não oferecer riscos à saúde. Destaca-se que, no Brasil, a norma de qualidade da água para consumo humano é composta por padrões físicos, químicos, orgânicos, inorgânicos e microbiológicos (BASTOS, 2018). Como padrão microbiológico, objeto deste estudo, destacam-se os indicadores: coliformes totais e a *Escherichia coli*.

As bactérias do grupo coliformes totais integram em sua maioria os gêneros *Citrobacter* sp., *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp. e a espécie *Escherichia coli*, as quais se caracterizam como bacilos Gram-negativos, oxidase negativos, não formadores de esporos, aeróbios ou anaeróbios facultativos e capazes de fermentar a lactose com produção de ácido, gás e aldeído a $35,0 \pm 0,5$ °C em 24-48 horas, podendo apresentar ou não atividade da enzima β – galactosidase (TORTORA *et al.*, 2012; BRASIL, 2013).

Pode-se inferir, pela característica dos coliformes totais de estarem presentes no ambiente, primordialmente no solo, que ao serem encontrados na água após o tratamento, apontam para a ineficiência do processo de desinfecção utilizado ou problemas de contaminação na rede de distribuição (BRASIL, 2012).

Ademais, a *E. coli*, principal representante do grupo de coliformes termotolerantes, faz parte da família Enterobacteriaceae e possui as características de fermentar a lactose e manitol – com produção de ácido e gás a $44,5 \pm 0,2$ °C em 24 horas –, produzir indol a partir do triptofano e apresentar atividade das enzimas β –galactosidase e β –glucuronidase (BRASIL, 2013).

Pelo fato de não se multiplicar no ambiente aquático, a *E. coli* é considerada o principal indicador de contaminação por dejetos, e de eventual presença de organismos patogênicos nesse meio. Visto que sua origem fecal é inquestionável e sua natureza



ubíqua pouco provável, julga-se válido seu papel como parâmetro de qualidade sanitária de alimentos e da água – natural e tratada (RATTI *et al.*, 2011; MATOS *et al.*, 2013; BRASIL, 2013; CORREIA, 2014).

Portanto, a legislação atual preconiza que a água deve estar livre de microrganismos patogênicos, principalmente de indicadores de contaminação fecal. Ressalta-se ainda que na análise microbiológica da água de consumo deve ocorrer ausência de *E. coli* em 100 mL.

Nessa conjuntura, o principal objetivo desse estudo na avaliação da qualidade da água das escolas é agir como uma ação de prevenção e promoção da saúde, de modo a assegurar que a mesma esteja própria para o consumo, evitando assim a ocorrência de doenças de veiculação hídrica, as quais acometem majoritariamente crianças, consideradas do grupo de risco, pois podem evoluir para infecções graves.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Nesse estudo, foram selecionadas nove escolas da rede pública e privada de ensino, localizadas nos municípios de Belém e Ananindeua, no estado do Pará, ambas inseridas na chamada Região Metropolitana de Belém.

Na ocasião das visitas, foram coletadas amostras de água da torneira da cozinha de cada escola, local onde ocorre o preparo da merenda escolar. Destaca-se que muitos estabelecimentos de ensino utilizam a água de seus reservatórios de armazenamento (caixa d'água), e um dos problemas na qualidade dessa água é a falta de higienização desses reservatórios, o que pode contribuir para a sua má qualidade (ROCHA *et al.*, 2010).

As coletas ocorreram no segundo semestre de 2019, sob os critérios estabelecidos pelo Manual Prático de Análise de Água da Funasa (BRASIL, 2013), o qual institui o passo a passo dos procedimentos a serem realizados, de modo que as coletas das amostras sejam feitas utilizando as práticas assépticas e evitando a contaminação externa. Após a coleta, as amostras foram transportadas em caixas térmicas, sob refrigeração, para análise laboratorial.

No Laboratório de Microbiologia Ambiental, do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA, as amostras de água foram analisadas através do teste de Presença e Ausência, utilizando o método Substrato Definido Enzimático (Colilert®/IDEXX), tendo em vista a pesquisa dos indicadores microbiológicos de qualidade da água.

A técnica aplicada detecta simultaneamente coliformes totais e *E. coli* na água, por meio da metabolização dos indicadores nutrientes O-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo (ONPG) e 4-metil-umbeliferil- β -D-glucuronide (MUG) presentes na ampola comercializada. Os coliformes totais apresentam ação da enzima β -galactosidase e a *E. coli* da enzima β -glucuronidase, as quais catalisam os substratos e geram produtos detectáveis – coloração amarela e fluorescência quando exposta à luz ultravioleta, respectivamente.

Sendo assim, as amostras de água recebem a adição da ampola contendo o substrato enzimático ONPG-MUG (Figura 1). Após breve homogeneização, as bolsas plásticas foram colocadas na estufa microbiológica, procedendo a incubação na temperatura de $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, durante 24 horas.

Figura 1. Imagem demonstrativa da adição da ampola contendo o Substrato Enzimático Definido ONPG-MUG na amostra de água.



Fonte: elaboração da autora, 2019.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A leitura do teste de Presença e Ausência foi através da observação de mudança da coloração da água (Figura 2), e em seguida exposição dessas amostras à luz UV com 360 nm para observação de fluorescência.

Das amostras de água coletadas das torneiras, quatro (4) obtiveram resultado positivo para coliformes totais, por meio da viragem de cor da água de incolor para amarelo, totalizando 44,44% de positividade para esse grupo de bactérias. Contudo, nenhuma amostra apresentou fluorescência sob a luz UV, indicando a ausência do principal indicador de contaminação fecal da água, a *E. coli*.

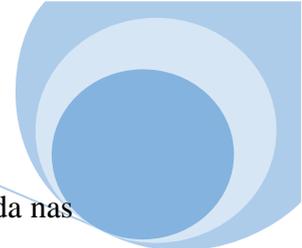
Figura 2. Observação da coloração das amostras de água após 24 horas de incubação.



Fonte: elaboração da autora, 2019.

Esse resultado vai de encontro a um estudo realizado em 96 escolas de Uberlândia (MG), no qual foi encontrada não conformidade no padrão de qualidade da água da torneira de 23 instituições, contabilizando uma contaminação de 11% por coliformes totais e *E. coli*. O mesmo estudo constatou também que ocorreu nova contaminação da água dentro dos reservatórios das próprias escolas, visto que na análise das amostras coletadas após o tratamento pelo Departamento Municipal de Água e Esgoto não foi observada a presença de *E. coli* (SILVEIRA, 2017).

Então, é pertinente concluir que a higienização regular dos reservatórios de armazenamento de água é importante para sua qualidade, evitando a contaminação da mesma. Dessa forma, essa manutenção é tão relevante quanto o tratamento inicial, uma vez que pesquisas averiguaram que a água, por vezes, chega às escolas em condições satisfatórias, o que legitima a sua contaminação posterior, em razão da ausência de limpeza regular nas caixas d'água e/ou problemas na tubulação.



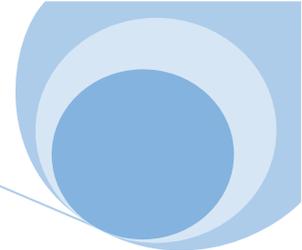
Sendo assim, no que se refere ao padrão de satisfatoriedade da água coletada nas escolas, em virtude dos fatores que consideram os coliformes totais como importantes indicadores de qualidade da água tratada e de contaminação ambiental, as amostras de água positivas para esse grupo de bactérias foram avaliadas como de qualidade insatisfatória (Tabela 1), já que em situação ideal, recomenda-se a ausência dos indicadores sanitários na água de consumo.

Logo, foram sugeridas as recomendações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, por meio da Resolução da Diretoria Colegiada Nº 52/2014, que dispõe sobre o regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação, incluindo cozinhas institucionais, a qual estabelece a higienização dos reservatórios de água a cada seis meses, com comprovação registrada da operação (BRASIL, 2014).

Tabela 1. Resultado das análises de água das torneiras das instituições de ensino da Região Metropolitana de Belém – PA.

Torneira	Coliformes Totais	<i>Escherichia coli</i>	Condições
T1	Presença	Ausência	Insatisfatória
T2	Presença	Ausência	Insatisfatória
T3	Ausência	Ausência	Satisfatória
T4	Ausência	Ausência	Satisfatória
T5	Ausência	Ausência	Satisfatória
T6	Presença	Ausência	Insatisfatória
T7	Ausência	Ausência	Satisfatória
T8	Ausência	Ausência	Satisfatória
T9	Presença	Ausência	Insatisfatória

Fonte: elaboração da autora, 2019.



4. REFERÊNCIAS

BASTOS R. K. X. Revisão da Portaria do Ministério da Saúde N° 2914/2011. Viçosa, MG: [s.n.], p. 35, 2018.

BRASIL. Agência Nacional de Águas. Atlas Brasil: abastecimento urbano de água: resultados por estado. Brasília: ANA: Engecorps/Cobrape, v. 2, p. 92, 2010.

BRASIL. Lei n° 9.433, de 8 de janeiro de 1997. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L9433.htm. Acesso em: 24 out. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC n° 52, de 29 de setembro de 2014. Brasília: Diário Oficial da União [2014]. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0052_29_09_2014.pdf/c05fbae-fa2c-4a34-a062-47123c6aebb9. Acesso em: 9 nov. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional da Saúde. Manual prático de análise de água. 4ª ed. Brasília: MS/FUNASA, p. 11-39, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. Perguntas e respostas sobre a Portaria MS n. 2914/2011. Brasília, DF: MS, p. 31, 2012.

CORREIA A. M. G. G. Presença de bactérias coliformes e Escherichia coli resistentes aos antibióticos Ciprofloxacina e Estreptomicina em água natural. Dissertação de Mestrado. Portugal. Universidade do Porto, p. 92, 2014.

COSANPA – Companhia de Saneamento do Pará. Balanço 2018 da COSANPA Tem Saldo Negativo De Mais De R\$ 240 Milhões. *s.l.*, 2019. Disponível em: <http://www.cosanpa.pa.gov.br/noticias/balanco-2018-da-cosanpa-tem-saldo-negativo-de-mais-de-r-240-milhoes/>. Acesso em: 5 dez. 2019.

MATOS M. A. J.; *et al.* Análise da qualidade microbiológica de águas de córregos utilizadas na irrigação de hortaliças. *In: Anais do Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão – CONPEEX*, p. 12037-12041, 2013.

ONU. Relatório de painel internacional pede ‘mudança fundamental’ na gestão da água, 2018. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/relatorio-de-painel-internacional-pede-mudanca-fundamental-na-gestao-da-agua/>. Acesso em: 20 out. 2019.

PERREIRA A. G.; OLIVEIRA R. A. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química da água consumida em escolas municipais de Divinópolis/MG. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, v. 8, n. 2, p. 85-98, 2017.

RATTI B. A.; *et al.* Pesquisa de coliformes totais e fecais em amostras de água coletadas no bairro zona sete, na cidade de Maringá-PR. *Anais Eletrônico VII*, 2011.

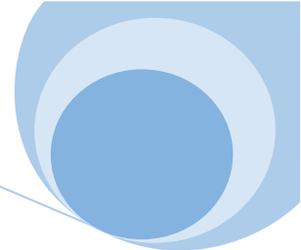
ROCHA E. S.; *et al.* Análise microbiológica da água de cozinhas e/ou cantinas das instituições de ensino do município de Teixeira de Freitas (BA). *Revista Baiana de Saúde Pública*, v. 34, n. 3, p. 694-705, 2010.

SILVEIRA A. C. Qualidade da água destinada ao consumo humano nas escolas públicas do município de Uberlândia/MG. *Dissertação de Mestrado*. Uberlândia. Universidade Federal de Uberlândia, p.159, 2017.

SOUZA J. R.; *et al.* A importância da qualidade da água e os seus múltiplos usos: caso Rio Almada, sul da Bahia, Brasil. *REDE - Revista Eletrônica do Prodepa*, Fortaleza, v. 8, n. 1, p. 26-45, 2014.

TORTORA G. J.; *et al.* *Microbiologia Ambiental*. *In: TORTORA G. J.; et al. Microbiologia*. 10ª ed. Porto Alegre: Artmed, Cap. 9. p. 766-791, 2012.

TRINDADE G. A.; *et al.* Avaliação da qualidade da água em três Escolas Públicas da Cidade de Macapá, Amapá. *Biota Amazônia*, Macapá, v. 5, n. 1, p. 116-122, 2015.



Capítulo 19

JEJUM INTERMITENTE BENEFÍCIOS E MALEFÍCIOS A CURTO E LONGO PRAZO

Carla Moreira¹, Stefânia Rodrigues¹, Vitória de Oliveira¹, Angel Renaro²

¹Acadêmica de Biomedicina, Centro Universitário Leonardo Da Vinci, Porto Alegre/RS.

²Biomédico e professor, Centro Universitário Leonardo Da Vinci, Porto Alegre/RS.

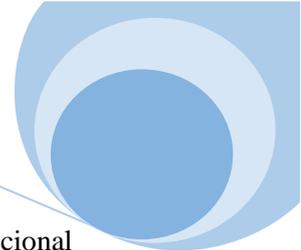
1. INTRODUÇÃO

A restrição calórica diária já foi comprovada em diversos estudos ser a forma mais eficaz de beneficiar a saúde em vários sentidos como longevidade, emagrecimento, prevenção e controle de doenças, evita doenças que causam morte precoce, entre outros benefícios. O jejum intermitente é uma possibilidade de aplicar a restrição calórica, privando o indivíduo de ingerir alimentos em períodos alternados, como sugere Varady *et al.*, (2013). Este protocolo vem ganhando destaque mundial e cada vez mais surge estudos científicos sobre o assunto.

O presente estudo teve por objetivo fazer uma revisão de artigos referentes ao jejum intermitente, suas vantagens e desvantagens a curto e longo prazo. Este protocolo de alimentação é caracterizado por períodos de privação da alimentação intercalados por períodos de consumo normal. Devido ao crescente número de pessoas interessadas por essa nova estratégia de alimentação diversos autores têm feito estudos a respeito deste método. Observou-se durante a revisão bibliográfica que alguns estudos obtiveram resultados positivos e outros negativos quanto ao jejum intermitente, a maioria relatou a necessidade de novos estudos acerca do assunto.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

“Jejum intermitente, jejum em dias alternados e outras formas de desistência calórica periódica estão ganhando popularidade na mídia e entre cientistas” (HORNE; MUHLESTEIN & ANDERSON, 2015).



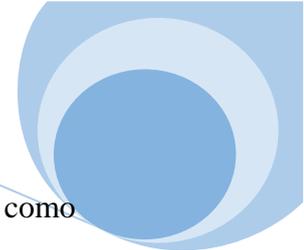
O jejum intermitente é uma modalidade de intervenção nutricional caracterizada pela diminuição da frequência alimentar que começou a ser estudado em muçulmanos, durante o período do Ramadã, sendo obrigatória a permanência em jejum durante o dia e alimentando-se apenas do pôr do sol ao amanhecer, por 30 dias consecutivos. Ao final do período observou-se modificações do perfil metabólico como melhoras no perfil lipídico, diminuição da frequência cardíaca e da massa gorda. (SALEH *et al.*, 2005)

A maioria dessas dietas não possui um sólido embasamento científico, o que pode acarretar efeitos colaterais e assim não ser saudável e sustentável em longo prazo. Além disso, apesar de essas dietas frequentemente levarem a resultados aparentemente positivos em curto prazo, como perda de peso, em longo prazo, prevalece uma baixa aderência pelos praticantes, que acabam abandonando a estratégia. Por fim, somado a isso, muitas delas induzem a perda de peso em virtude de resultarem em baixíssima ingestão calórica, mas os praticantes tendem a recuperar o peso perdido assim que retomam a dieta anterior, ocasionando o chamado “efeito sanfona”, segundo Moyad (2004).

O “efeito sanfona” já foi descrito em diversos estudos como sendo prejudicial, correlacionando-se com aumento da gordura corporal, excesso de peso, resistência à insulina, intolerância à glicose e diabetes tipo 2, maior risco para doenças cardiovasculares, segundo estudos de Montani; Schutz & Dulloo (2015), aumento da incapacidade de mobilidade e mortalidade na velhice, de acordo com Murphy *et al.*, (2014) e até mesmo, alguns tipos de câncer, segundo Thompson & Mctiernan (2011) ressaltando a importância da perda definitiva do peso corporal.

De acordo com Chausse *et al.*, (2014), o jejum intermitente desenvolve alterações na função hipotalâmica [que controla o sistema nervoso, atua no controle da temperatura do corpo, controla e regula os processos de sede e fome, atua no controle das emoções e comportamentos].

Já no ano de 2015, Chausse *et al.*, concluíram que o jejum intermitente promove o desequilíbrio redox no cérebro e no fígado (estresse oxidativo), e protege contra os danos oxidativos do coração. Também observaram que com o jejum de dias alternados há um aperfeiçoamento da capacidade respiratória da mitocôndria no fígado, mas ao mesmo tempo constatou-se um aumento na quantidade de radicais livres,



malondialdeído e proteínas carboniladas (marcadores para estresse oxidativo) como resultado do jejum intermitente.

Como intuito de testar a hipótese de regular o ritmo circadiano e com isso obter respostas positivas para saúde de humanos, Mindikolu *et al.*, (2020), fizeram um estudo com quatorze pessoas, onde aplicaram o jejum intermitente por 30 dias consecutivos utilizando um protocolo de 14 horas de jejum e o período de alimentação era apenas após o pôr do sol e antes de amanhecer.

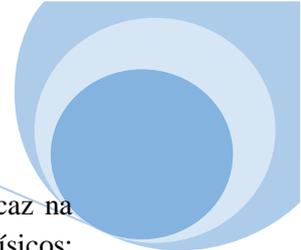
Nosso estudo tem implicações clínicas importantes. Nossos resultados mostraram que o jejum intermitente do amanhecer ao pôr do sol por mais de 14 h diariamente por 30 dias consecutivos estava associado a uma assinatura proteômica sérica anticâncer e proteínas reguladoras chave reguladas positivamente do metabolismo da glicose e lipídios, sinalização da insulina, relógio circadiano, reparo do DNA, remodelação do citoesqueleto, sistema imunológico e função cognitiva, e resultou em um proteoma sérico de proteção contra câncer, obesidade, diabetes, síndrome metabólica, inflamação, doença de Alzheimer e vários distúrbios neuropsiquiátricos. (MINDIKOLU *et al.*, 2020)

Varady *et al.*, (2013), observou que o peso de indivíduos não obesos reduziu após 8 semanas de dieta, e este estudo sugere que o jejum intermitente é uma opção considerável para ajudar pessoas com obesidade a perder peso e diminuir o risco de doença arterial coronariana, também observou que no grupo que fez jejum houve uma diminuição de peso (5,2kg), LDL, triglicerídeos, pressão arterial sistólica e diastólica e leptina [hormônio responsável pelo controle da ingestão alimentar, a ação da leptina no sistema nervoso central (hipotálamo) reduz a ingestão alimentar, aumenta o gasto energético e regula a função neuroendócrina e o metabolismo da glicose e gorduras].

“Em resumo, esses achados preliminares sugerem que o FDA (jejum intermitente) é uma estratégia viável de perda de peso para indivíduos com peso normal e sobrepeso que desejam perder uma quantidade moderada de peso (5-6 kg) dentro de um período de tempo relativamente curto (12 semanas)” (VARADY *et al.*, 2013).

Segundo Hayward *et al.*, (2014), o jejum intermitente aliado ao exercício de resistência resultou em uma diminuição da massa gorda, assim como o peso. O estudo foi feito em um tempo de refeição de 8 horas e jejum de 16 horas, por 30 dias.

Reis *et al.*, (2019), fizeram um estudo utilizando ratos Wistar divididos em grupos com ambos os sexos, os grupos teste foram submetidos a jejum intermitente de 24 horas e o grupo controle tinham alimentação à disposição, o estudo durou 42 dias:



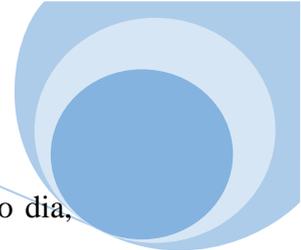
A análise do JI no peso corporal em ratos demonstrou ser eficaz na manutenção do peso corporal sem a necessidade de exercícios físicos; mostrou-se eficaz na redução de triglicérides de ambos os sexos, também houve redução nos níveis séricos do colesterol; entretanto, apenas em fêmeas foi significativamente relevante. O HDL dos machos no grupo teste teve uma redução sem significância em comparação ao controle; diferente das fêmeas, que tiveram um aumento significativo. Assim, concluímos que o JI é eficaz em reduzir o peso e controlar as taxas lipídicas, especialmente no sexo feminino (REIS *et al.*, 2019).

O maior estudo randomizado foi feito por Harvie *et al.*, (2011), que observaram melhoras em ambos os grupos (grupo jejum intermitente e grupo com restrição energética contínua) a respeito da proteína C-reativa (marcador de inflamação), LDL, triglicérides e pressão arterial, o grupo que realizou o jejum intermitente apresentou reduções mais consideráveis nos marcadores de resistência à insulina e peso.

Dois anos depois, Harvie *et al.*, (2013), observaram que introduzindo uma quantidade maior de proteínas e gorduras na dieta durante a janela alimentar os indivíduos mantinham a massa magra e sentiam menos fome durante o período de jejum intermitente:

Os regimes de IER testados aqui eram restritos a carboidratos e mais ricos em proteínas e gorduras em dias restritos para reduzir a sensação de fome, que acreditamos ser a chave para a adesão... as dietas futuras do IECR devem, no entanto, ser modificadas para maximizar a ingestão de fibras e promover alimentos ricos em Ca, Mg, Fe e Se, considerados preferíveis e mais fisiológicos que os suplementos (HARVIE *et al.*, 2013).

O diabetes *mellitus* tipo 2 é umas das principais causas de cegueira, insuficiência renal, ataques cardíacos, derrame e amputação dos membros inferiores, segundo apresentou a revista *Global Report on Diabetes* no ano de 2016 (WHO, 2016), representando um dos mais importantes problemas de saúde pública do planeta em virtude do alto custo que representa aos cofres públicos, bem como pela prevalência crescente e associação com outras morbidades, conclui Hex *et al.*, (2012) e Zhuo *et al.*, (2014). A elevação dos casos de diabetes tipo 2 está relacionada com o aumento das taxas de sobrepeso e obesidade, decorrentes de alimentação inadequada geralmente associada ao estilo de vida sedentário, segundo Flor & Campos (2017) e Malta *et al.*, (2013).



Os praticantes de jejum intermitente podem escolher jejuar no começo do dia, não se alimentando no café da manhã e almoço, prolongando dessa forma o jejum noturno; ou iniciar o jejum no fim do dia, concentrando a ingestão alimentar no período matutino. É crescente o número de profissionais da saúde, educadores físicos e nutricionistas que estão recomendando esse tipo de dieta. Um estudo publicado realizando jejum intermitente de 24 horas observou como ponto negativo fome constante e conseqüentemente menor adesão dos participantes. “O jejum em dias alternados foi possível em indivíduos não obesos e a oxidação de gordura aumentou. No entanto, a fome nos dias de jejum não diminuiu, talvez indicando a probabilidade de continuar essa dieta por longos períodos de tempo” (HEILBROONN *et al.*, 2005).

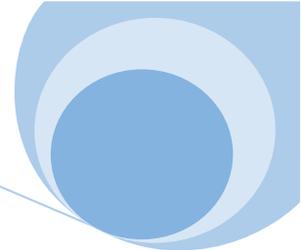
Estudos em humanos têm mostrado que indivíduos diabéticos praticantes de Jejum Intermitente exibem hipoglicemia, cetoacidose, desidratação, hipotensão e trombose, segundo Chentli *et al.*, (2013) e Corley *et al.*, (2018). De acordo com Akgül; Derman & Kanbur (2014), em adolescentes, esse regime alimentar foi relatado como possível causador de distúrbios alimentares. Homens de meia idade tiveram elevação significativa da pressão sanguínea e do colesterol total após o jejum intermitente, segundo Stote *et al.*, (2007). Aumento das concentrações plasmáticas de cortisol noturno também já foi reportado em vários estudos após o jejum do Ramadã, sugerindo ritmo circadiano alterado, segundo Ajabnoor (2014). Em atletas, o jejum conduziu a um aumento significativo da sensação de fadiga e diminuição do desempenho anaeróbico, conclui Chaouachi *et al.*, (2009).

A cetoacidose que ocorre em indivíduos diabéticos e que causa desordens no organismo difere da cetose provocada por dietas e pelo jejum voluntário, segundo a Tabela 1.

Tabela 1. Diferença da cetoacidose diabética e a dieta cetogênica – 2013.

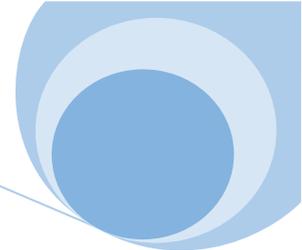
Níveis Sanguíneos	Dieta normal	Dieta cetogênica	Cetoacidose diabética
Glicose (mg/dl)	80-120	65-80	>300
Insulina (uU/l)	6-23	6.6-9.4	=0
Concentração de corpos cetônicos	0.1	7/8	>25
pH	7.4	7.4	<7.3

Fonte: Paoli *et al.*, (2013).



3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estudos apresentam resultados positivos ou negativos no protocolo de jejum intermitente, dependendo da forma de sua aplicação, tempo de duração, dieta associada, exercícios e o biótipo do indivíduo. O jejum de 24 horas teve resultados positivos nos biomarcadores, no entanto a fome esteve presente como fator negativo segundo estudos de Heilbroonn *et al.*, (2005). Segundo Varady *et al.*, no ano de 2013, o jejum intermitente pode ser tão eficaz quanto a restrição calórica em relação a perda de peso, sensibilidade à insulina e outros biomarcadores. No mesmo ano (2013), Harvie *et al.*, defenderam que além do jejum intermitente é importante introduzir uma quantidade maior de proteínas e gorduras a fim de manter a massa magra e promover saciedade. Mindikoglu *et al.*, (2020), acredita que o jejum intermitente do pôr do sol ao amanhecer pode beneficiar o ser humano em muitos pontos, como a prevenção da síndrome metabólica, doenças cognitivas, neuropsiquiátricas e até mesmo o câncer. Em ratos Wistar, Reis *et al.*, em 2019, concluiu que o jejum intermitente de 24 horas beneficiou significativamente apenas as fêmeas, reduzindo o peso e controlando as taxas lipídicas. Estudos demonstram que mesmo pessoas não obesas estão se beneficiando do jejum intermitente, trazendo saúde e longevidade para os indivíduos. Como resultados negativos, estudos de Moyad em 2004 apresentaram o efeito sanfona para aqueles que consumiam baixíssimas calorias, que após o jejum intermitente o indivíduo desenvolveu aumento da gordura corporal e alguns desenvolveram doenças. O presente estudo apresentou as consequências do jejum intermitente, considerando que poderá trazer resultados positivos ou negativos. O jejum intermitente em curto prazo é capaz de diminuir o ganho de peso, contudo, em longo prazo não é considerado saudável, pois podem causar alterações metabólicas indesejáveis como ganho de gordura e perda de massa muscular, desregulação dos hormônios e o efeito sanfona. São necessários novos estudos para comprovar a sua eficácia na prevenção e no controle de doenças metabólicas e qual o protocolo é melhor para cada tipo de pessoa, bem como qual dieta e exercício deveria ser associado ao jejum intermitente.



4. REFERÊNCIAS

AJABNOOR G. M.; *et al.* Health impact of fasting in Saudi Arabia during Ramadan: association with disturbed circadian rhythm and metabolic and sleeping patterns. *PLoS One*. v. 9, n. 5, 2014.

AKGÜL S.; DERMAN O.; KANBUR N. Fasting during Ramadan: a religious factor as a possible trigger or exacerbator for eating disorders in adolescents. *International Journal of Eating Disorders*, v. 47, n. 8, 2014.

CHAOUACHI A.; *et al.* Effect of Ramadan intermittent fasting on aerobic and anaerobic performance and perception of fatigue in male elite judo athletes. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, v. 23, n. 9, 2009.

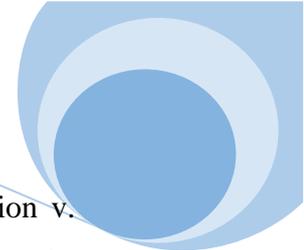
CHAUSSE B.; *et al.* Intermittent fasting induces hypothalamic modifications resulting in low feeding efficiency, low body mass and overeating. *Endocrinology*, v. 155, n. 7, p. 66-2456, 2014.

CHAUSSE B.; *et al.* Intermittent fasting results in tissue-specific changes in bioenergetics and redox state. *PloS One*, v. 10, n. 3, 2015.

CHENTLI F.; *et al.* Diabetes *mellitus* and Ramadan in Algeria. *Journal of Endocrinology and Metabolism*, v. 17, Suppl 1, 2013.

CORLEY B. T.; *et al.* Intermittent fasting in Type 2 diabetes *mellitus* and the risk of hypoglycemia: a randomized controlled trial. *Diabetic Medicine*, v. 35, n. 5, 2018.

FLOR L. S.; CAMPOS M. R. The prevalence of diabetes *mellitus* and its associated factors in the Brazilian adult population: evidence from a population-based survey. *Brasilian Journal of Epidemiology*. v. 20, n. 1, 2017.



HARVIE M.; *et al.* The effect of intermittent energy and carbohydrate restriction v. daily energy restriction on weight loss and metabolic disease risk markers in overweight women. *British Journal of Nutrition*, v. 110, p. 47-1534, 2013.

HARVIE M.; *et al.* The effects of intermittent or continuous energy restriction on weight loss and metabolic disease risk markers: a randomized trial in young overweight women. *International Journal Obesity*, v. 35, n. 5, p. 27-714, 2011.

HAYWARD S.; *et al.* Effects of intermittent fasting on markers of body composition and mood state. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, v. 11 (Suppl 1), p. 25, 2014.

HEILBRONN L.; *et al.* Alternate – day fasting in nonobese subjects: effect on body weight, body composition and energy metabolism. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2005.

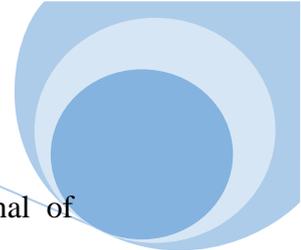
HEILBRONN L.; *et al.* Glucose tolerance and skeletal muscle gene expression in response to alternate day fasting. *Obesity Research*, v. 13, n. 3, p. 81-574, 2005.

HEX N.; *et al.* Estimating the current and future costs of Type 1 and Type 2 diabetes in the UK, including direct health costs and indirect societal and productivity costs. *Diabetic Medicine*, v. 29, n. 7, 2012.

HORNE B.; MUHLESTEIN J.; ANDERSON J. Health effects of intermittent fasting: hormesis or harm? A systematic review. *The American Journal Clinical Nutrition*, v. 102, p. 70-464, 2015.

MALTA D. C.; *et al.* Health care among adults with self-reported diabetes *mellitus* in Brazil. *National Health Survey. Revista Brasileira Epidemiologia*, v. 18, Suppl 2:17-32, 2015.

MINDIKOGLU A.; *et al.* Intermittent fasting from dawn to sunset for 30 consecutive days is associated with anticancer proteomic signature and upregulates key regulatory proteins of glucose and lipid metabolism, circadian clock, DNA repair, cytoskeleton



remodeling, immune system and cognitive function in healthy subjects. *Journal of Proteomics*, v. 217, 2020.

MONTANI J. P.; SCHUTZ Y.; DULLOO A. G. Dieting and weight cycling as risk factors for cardio metabolic diseases: who is really at risk? *Obesity Reviews*, v. 16, Suppl 1, 2015.

MOYAD M. A. Fad diets and obesity—Part I: Measuring weight in a clinical setting. *Urologic Nursing*, v. 24, n. 2, 2004.

MURPHY R. A.; *et al.* Weight change, body composition, and risk of mobility disability and mortality in older adults: a population-based cohort study. *Journal of the American Geriatrics Society*, n. 8, 2014.

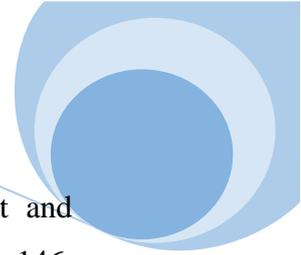
PAOLI A.; *et al.* Além da perda de peso: uma revisão dos usos terapêuticos de dietas com muito pouco carboidrato (cetogênico). *Revista Europeia de Nutrição Clínica*, v. 68, n. 5, p. 641, 2014.

REIS R.; *et al.* Efeitos do jejum intermitente no peso corporal e perfil lipídico em *Rattus norvegicus*. *Journal of Health & Biological Sciences*, v. 7, n. 4, p. 399-404, 2019.

SALEH S.; *et al.* Effects of Ramadan fasting on waist circumference, blood pressure, lipid profile, and blood sugar on a sample of healthy Kuwaiti men and women. *Malaysian Journal of Nutrition, Kuwait*, v. 11, n. 2, p. 50-143, 2005.

STOTE K. S.; *et al.* A controlled trial of reduced meal frequency without caloric restriction in healthy, normal-weight, middle-aged adults. *The American Journal Clinical Nutrition*, v. 85, n. 4, 2007.

THOMPSON H. J.; MCTIERNAN A. Weight cycling and cancer: weighing the evidence of intermittent caloric restriction and cancer risk. *Cancer Prevention Research*, v. 4, n. 11, 2011.



VARADY K.; *et al.* Alternate day fasting for weight loss in normal weight and overweight subjects: a randomized controlled trial. *Nutrition Journal*, v. 12, n. 146, 2013.

ZHUO X.; *et al.* The lifetime cost of diabetes and its implications for diabetes prevention. *Diabetes Care*, v. 37, n. 9, 2014.

WHO. Global report on diabetes. Geneva: World Health Organization; 2016. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204871/9789241565257_eng.pdf;jsessionid=B4C6A49E811133DDAE8AF9569291D79?sequence=1. Acesso em: 10 jul. 2019.

Capítulo 20

AVALIAÇÃO IMUNOTOXICOLÓGICA DA PROLE ORIUNDA DA UTILIZAÇÃO DE REPELENTE CONTENDO IR3535 DURANTE A GESTAÇÃO E AMAMENTAÇÃO EM RATAS WISTAR

Victoria C Cavalari¹, Stephanie Kilim¹, João LC Ribas²

¹Acadêmica de Biomedicina, Universidade Positivo, Curitiba-PR.

²Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial, Universidade Positivo, Curitiba-Paraná

1. INTRODUÇÃO

A urbanização e a crescente globalização trouxeram impactos para a sociedade, principalmente no contexto da saúde, uma vez que culminaram para o aumento dos índices de doenças transmitidas por vetores (TAVARES *et al.*, 2018). Tal é o fato, que essas doenças são responsáveis por 17% de todas as infecções em todo o mundo (HUNTINGTON; ALLISON & NAIR, 2016). Dentre essas infecções, aquelas que tiveram maior destaque, pela sua capacidade de gerar epidemias, foram as causadas por arbovírus como dengue, chikungunya, febre amarela e zika vírus (TAVARES *et al.*, 2018).

Como as abordagens terapêuticas para essas doenças são limitadas e ainda não foi possível uma formulação vacinal para todas, a prevenção se torna primordial. A tríade de prevenção se baseia em redução do contato entre o vetor e seu hospedeiro, que pode ser alcançada pelo uso de repelentes de insetos, juntamente com roupas de proteção e tempo limitado ao ar livre (KATZ; MILLER & HEBERT, 2008).

Dentre as formulações do mercado, os repelentes sintéticos mais utilizados são DEET (N, N-dietilmeta toluamida), IR3535 (butilacetilaminopropionato de etila) (EB) e Icaridina (Picaridin) (1-(1-metilpropoxycarbonil)-2-(2-hidroxietil)-piperidina). (PAUMGARTTEN *et al.*, 2016). Apesar de eficazes, alguns dos inseticidas disponíveis são considerados inaceitáveis em termos ambientais (WEAVER *et al.*, 2018) e



potencialmente tóxicos, como é o caso do DEET em que já foram reportados casos de dermatite, reações alérgicas e toxicidade neurológica e cardiovascular (BROWN *et al.*, 1997). Portanto, foi recomendado às mulheres grávidas e bebês com menos de 6 meses de idade que evitem o contato com formulações de repelentes contendo DEET (TAVARES *et al.*, 2018). Tendo em vista esse alerta, a busca de outras formulações se intensificou, principalmente para as gestantes, já que a infecção por Zika, em mulheres grávidas aumenta o risco de anormalidades estruturais do cérebro no feto, incluindo a microcefalia (MLAKAR *et al.*, 2016; MARTINES, 2016; HUNTINGTON; ALLISON & NAIR, 2016).

Apesar de considerado mais seguro, estudos mostram que o IR3535 tem uma penetração de 13,3% (BROSCHARD *et al.*, 2013), o que constitui um dos meios para que se possa haver alguma toxicidade. Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo avaliar possíveis alterações imunotoxicológico geradas na prole, pela utilização de repelente contendo IR3535 durante a gestação e amamentação.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. ANIMAIS E DESENHO EXPERIMENTAL

Foram utilizadas ratas (*Rattus norvegicus*) variedade Wistar, de aproximadamente 200g em idade reprodutiva. As ratas foram acasaladas com ratos machos na proporção de um macho para quatro fêmeas. As fêmeas prenhas serão separadas randomicamente de forma com que cada grupo - controle e experimental – contivesse 10 animais cada.

2.2. SUBSTÂNCIAS UTILIZADAS E EXPOSIÇÃO

Foi utilizado no grupo experimental repelente manipulado contendo 11% de IR3535 em gel carbopol, o qual foi aplicado sob a pele sem pelos, delimitada a 5cm². Para o grupo controle foi utilizado o gel carbopol. Tanto o gel contendo repelente, quanto o gel controle foram aplicadas nas ratas 3x ao dia com um intervalo de 4h entre as aplicações (recomendação do fabricante para gestante). Durante a gestação a exposição ocorreu em dois grupos, grupo I exposição feita do 7º ao 13º dia de prenhez,



grupo II ocorreu entre o 14º ao 20º dia de prenhez. O grupo proveniente do período de lactação foi denominado grupo III: Exposição do 1º dia pós-parto até o desmame no 21º com eutanásia logo após o fim do tratamento.

2.3. DETERMINAÇÕES IMUNOLÓGICAS

2.3.1. MIGRAÇÃO CELULAR PERITONEAL

Após a exposição, metade dos animais expostos recebeu carragenina 1mg/kg via intraperitoneal. Quatro horas após a aplicação de carragenina os animais foram eutanasiados e a cavidade peritoneal foi lavada com salina. O fluido removido foi utilizado para a avaliação da migração celular. Os animais que não receberam carragenina foram utilizados para as determinações hematológicas.

2.3.2. AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DO ÓXIDO NÍTRICO

Após a centrifugação do lavado peritoneal, o Óxido Nítrico foi determinado usando o método modificado por NEUMANN; BARREDA & BELOSEVIC, (1998). A leitura da absorbância será realizada 10 minutos após o início da reação, e a quantidade de óxido nítrico produzida será expressa em $\mu\text{mol.L}^{-1}$.

2.3.3. DETERMINAÇÕES HEMATOLÓGICAS

O sangue foi coletado em heparina na proporção 20 unidades por mL de sangue. Para a contagem global dos eritrócitos e leucócitos e a determinação de hemoglobina, hematócrito e índices hematimétricos. Foi utilizado o aparelho hematológico BC-5800 (Mindray, China). Para a contagem diferencial dos leucócitos foi utilizada as especificações de WINTROBE (1934).

2.3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos das análises foram avaliados através da análise de variância – ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni. Para as análises estatísticas foi utilizado GraphPad Software V.2.01, GraphpadInstat-TM (1990-1993). Os resultados estão

expressos como média ± EPM (erro padrão da média). O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha=0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. DETERMINAÇÕES HEMATOLÓGICAS

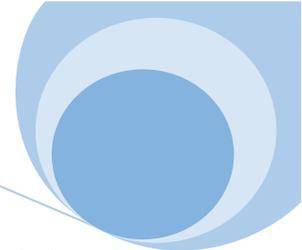
Durante a exposição no período gestacional foram observadas alterações significativas na contagem global dos leucócitos dos machos do grupo I e II (aumento $p=0,0352$; redução $p=0,0416$ respectivamente) e nas fêmeas do grupo II (redução $p=0,0478$). Ainda no Grupo I, a prole de machos também demonstrou redução significativa na contagem de eritrócitos e no hematócrito (Tabela 1).

Enquanto, para as mães expostas ao repelente durante o período de lactação (Grupo III), foi observada uma redução significativa na contagem dos eritrócitos e na determinação da hemoglobina e hematócrito na prole das fêmeas. Assim como houve uma redução significativa na contagem global dos leucócitos na prole dos machos e fêmeas desse grupo (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros Hematológicos após exposição ao IR3535

		Eritrócitos ($10^9/\mu\text{L}$)	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (g/dL)	Leucócitos ($10^3/\mu\text{L}$)
Grupo I Machos	Controle	7,916 ± 0,09	12,36 ± 0,12	49,64 ± 0,91	55,43 ± 0,21	15,30 ± 0,22	27,32 ± 1,54	11,720 ± 0,15
	Expostos	7,361 ± 0,08*	12,94 ± 0,23	44,89 ± 0,60*	48,26 ± 0,18*	10,36 ± 0,34*	23,95 ± 1,89*	11,500 ± 0,42
Grupo I Fêmeas	Controle	6,747 ± 0,15	13,38 ± 0,22	42,75 ± 0,76	50,32 ± 1,28	18,29 ± 1,73	25,22 ± 1,37	9,360 ± 0,56
	Exposto	6,899 ± 0,09	13,49 ± 0,15	42,78 ± 0,44	48,95 ± 0,41	17,31 ± 0,10	23,99 ± 0,87	9,525 ± 0,37
Grupo II Machos	Controle	8,021 ± 0,12	15,13 ± 0,24	42,07 ± 0,99	58,12 ± 0,65	17,39 ± 0,73	26,52 ± 1,87	10,918 ± 0,96
	Exposto	8,230 ± 0,11	15,50 ± 0,50	42,51 ± 1,19	56,34 ± 0,37	16,61 ± 0,10	25,99 ± 0,37	5,475 ± 0,72*
Grupo II Fêmeas	Controle	7,361 ± 0,14	12,00 ± 0,81	46,00 ± 1,06	52,37 ± 1,05	18,27 ± 0,54	25,72 ± 2,07	11,083 ± 0,38
	Exposto	7,028 ± 0,24	13,18 ± 0,31	48,46 ± 0,98	49,37 ± 0,94	17,96 ± 0,26	26,82 ± 0,37	6,853 ± 0,10*
Grupo III Machos	Controle	6,059 ± 0,27	13,50 ± 0,47	46,00 ± 1,02	56,12 ± 1,54	18,79 ± 0,53	26,32 ± 0,44	12,520 ± 0,45
	Exposto	6,033 ± 0,28	12,51 ± 0,63	47,46 ± 0,98	54,95 ± 0,36	16,68 ± 0,54	25,20 ± 0,97	6,500 ± 0,32*
Grupo III Fêmeas	Controle	6,575 ± 0,23	15,06 ± 0,67	40,83 ± 0,54	53,12 ± 0,86	17,39 ± 0,66	27,72 ± 0,54	11,050 ± 0,45
	Exposto	5,753 ± 0,13*	12,38 ± 0,54*	31,90 ± 0,73*	42,67 ± 0,41*	13,51 ± 0,84*	22,63 ± 0,37*	8,280 ± 0,83*

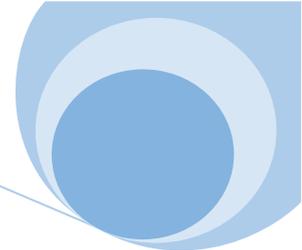
Legenda: Os valores são expressos como média ± erro padrão da média. * Indicam diferença estatística significativa ($p<0,05$). ANOVA, Bonferroni. VCM - Volume Corpuscular Médio; HCM - Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM - Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média.



As variações ocorridas nos meios biológicos, como sangue, urina, ar exalado servem como biomarcadores biológicos (WHO *et al.*, 1996), esses por sua vez, se tornaram ferramentas imprescindíveis para se fazer a monitorização da saúde dos indivíduos, pois podem elucidar a relação causa-efeito e dose-efeito de uma substância para a saúde humana (AMORIM, 2003). Nesse contexto, os índices hematológicos exibem sensibilidade diferente aos vários fatores ambientais e químicos (VENTURINI *et al.*, 2014) o que os tornam importantes biomarcadores de estresse (BRIDGES; CECH JR & PEDRO, 1976; ROCHA, 2009) e toxicidade.

Tanta é a sensibilidade dos índices hematimétricos, que eles são os primeiros elementos a sofrerem alterações durante uma toxicidade aguda da medula óssea, tendo como resultado uma supressão reversível dos elementos eritróides (GROSS *et al.*, 1982), essa resposta da medula pode ser resultante de desordens na permeabilidade das membranas dos eritrócitos ou resultado da ativação de mecanismos de proteção que incluem liberação de eritrócitos de depósitos de sangue ou tecidos hematopoiéticos na corrente sanguínea (SVOBODOVÁ; VYKUSOVA & MACHOVA, 1994; ROCHA, 2009). No presente estudo, foi evidenciada a queda dos índices hematimétricos nos machos do grupo I, entretanto, de forma curiosa não foram observadas mudanças na série eritróide do grupo II, o que pode significar uma relação dependente do período de exposição ao repelente durante a gestação. Assim como há uma correlação evidenciada para o período de lactação, em que o Grupo III também apresentou queda dos biomarcadores hematológicos, fato justificado pela natureza do aleitamento, pois além propriedades nutricionais e imunológicas o leite materno pode conter substâncias ambientais e carrear para o feto esses xenobiontes (CORRALO *et al.*, 2016).

Já na série branca, houve um processo de leucopenia na prole dos machos e fêmeas do grupo I, II e III. Em estudos feitos para investigação da toxicidade do álcool no organismo, um padrão semelhante foi encontrado, no qual os autores observaram que essa substância é capaz de suprimir as reservas de granulócitos levando a uma leucopenia (MCFARLAND & LIBRE, 1963; BEARD *et al.*, 1966; LIU, 1973; BALLARD, 1980) assim como foi relatado, em estudos epidemiológicos, uma risco aumentado para agranulocitose induzida por medicamentos e drogas através de mecanismos imunológicos ou citotóxicos (ANDERSOHN; KONZEN & GARBE, 2007).



3.2. DETERMINAÇÕES IMUNOLÓGICAS

3.2.1. MIGRAÇÃO LEUCOCITÁRIA

Nas análises imunológicas do período gestacional, a contagem global de leucócitos do lavado peritoneal reduziu significativamente no grupo II da prole de fêmeas expostas ($p < 0,0001$). Nos animais desafiados com carragenina, tanto os machos quanto as fêmeas do grupo I e II tiveram redução significativa na contagem global de leucócitos peritoneais ($p < 0,0001$) (Figura 1).

Enquanto que para o Grupo III, respectivo a prole oriunda de mães expostas durante a amamentação, ocorreu uma redução significativa na contagem global de leucócitos peritoneais ($p < 0,0001$), tanto dos machos quanto das fêmeas desafiados com carragenina (Figura 1).

Um evento precursor e primordial que ocorre durante um processo inflamatório é a transmigração leucocitária, em que os leucócitos circulantes do sangue migram em direção aos locais de lesão e infecção tecidual para contribuir na reparação tecidual (NOURSHARGH & ALON, 2014), “*in vitro*” essa simulação inflamatória é protagonizada pela injeção de carragenina, e como observado nos resultados ocorreu uma redução desse processo de transmigração leucocitária, o que reflete em um déficit qualitativo dos leucócitos, evento semelhante ao observado por HOFBAUER; SPEISER & KAPIOTIS, (1998) em que relatou uma redução significativa da migração leucocitária sob a influência do ibuprofeno.

Notavelmente KAPIOTIS *et al.*, (1996) demonstraram que o déficit na migração leucocitária decorrente da exposição ao ibuprofeno era consequência de uma redução significativa da expressão da molécula de adesão celular vascular (VCAM-1 e ICAM-). O que abre a hipótese de que a redução da quimiotaxia dos leucócitos frente ao desafio com a carragenina pode ser resultado de uma interferência negativa do IR3535 nas células de adesão.

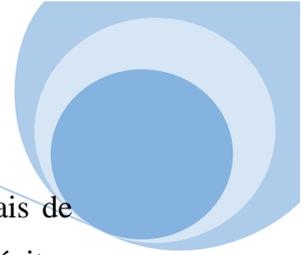
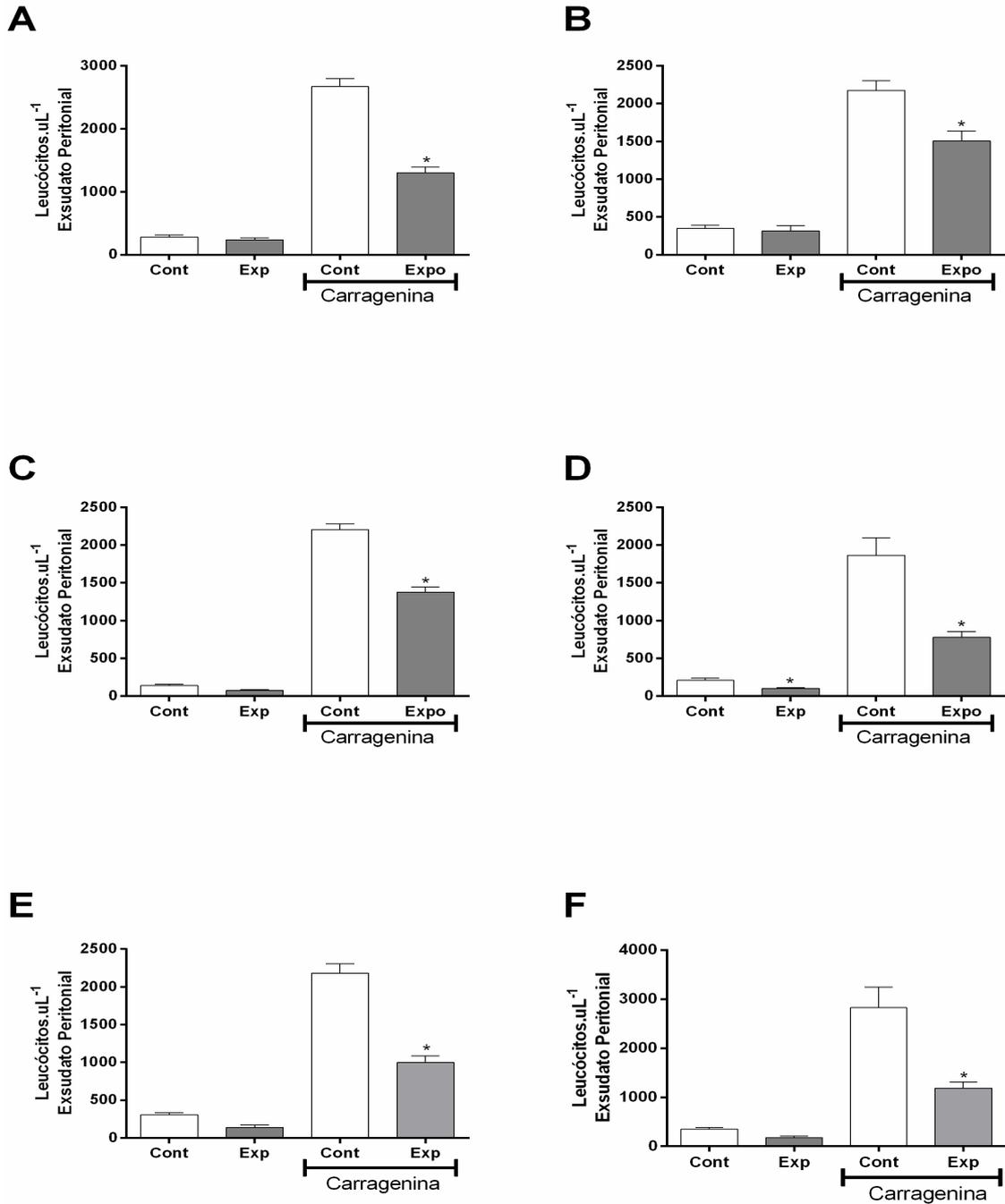


Figura 1. Leucócitos Peritoneais de Machos, Grupo I (A). Leucócitos Peritoneais de Fêmeas, Grupo I (B). Leucócitos Peritoneais de Machos, Grupo II (C). Leucócitos Peritoneais de Fêmeas, Grupo II (D). Leucócitos Peritoneais de Machos, Grupo III (E). Leucócitos Peritoneais de Fêmeas, Grupo III (F). *indica diferença estatística significativa em relação ao grupo controle. Cont: prole oriundas de ratas controle. Exp: prole oriundas de ratas expostas ao IR3535.

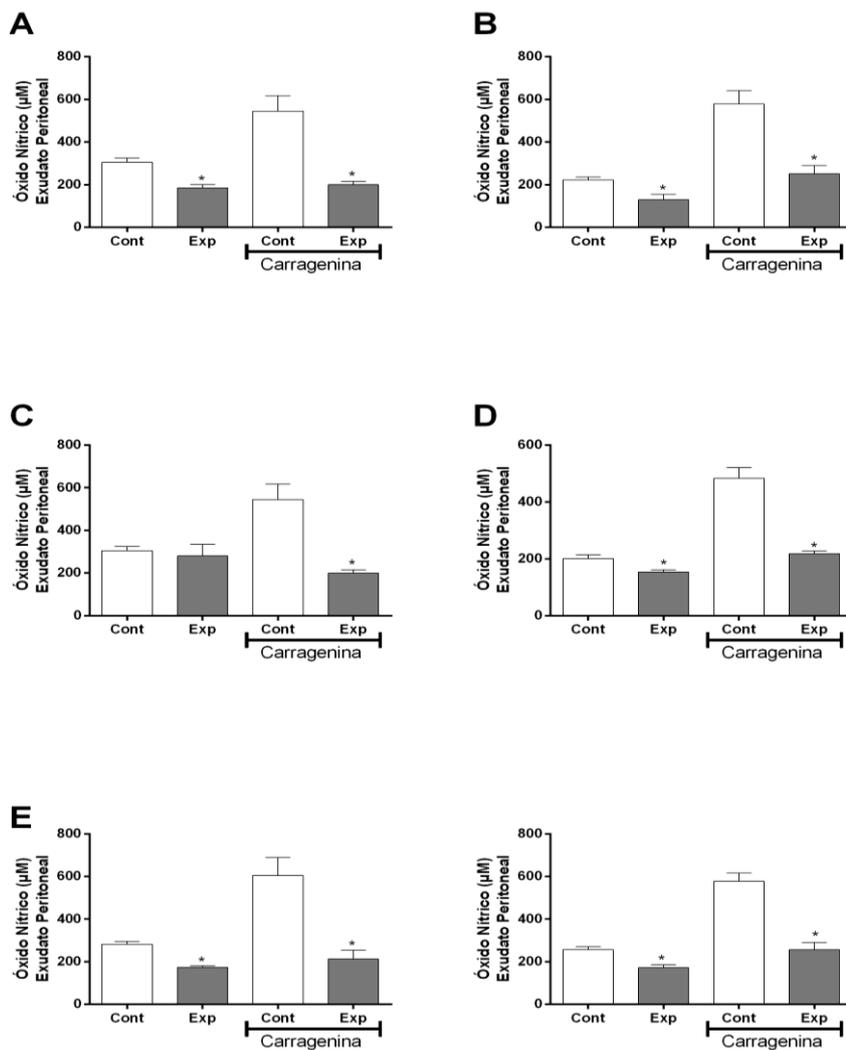


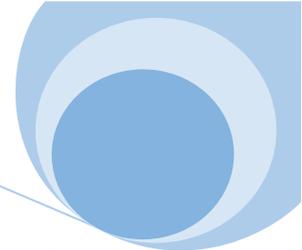


3.3. DETERMINAÇÃO DO ÓXIDO NÍTRICO

Na determinação do óxido nítrico do lavado peritoneal observou-se uma redução significativa na prole dos machos do grupo I ($p=0,0010$) e nas fêmeas do grupo I e II ($p=0,0029$; $p=0,0006$ respectivamente). Da mesma forma, observou-se uma redução significativa na determinação do óxido nítrico do lavado peritoneal tanto nos machos ($p < 0,0001$) quanto nas fêmeas ($p=0,0044$) (Figura 2).

Figura 2. Óxido Nítrico peritoneal de Machos, Grupo I (A). Óxido Nítrico Peritoneal de Fêmeas, Grupo I (B). Óxido Nítrico Peritoneal de Machos, Grupo II (C). Óxido Nítrico Peritoneal de Fêmeas, Grupo II (D). Óxido Nítrico Peritoneal de Machos, Grupo III (E). Óxido Nítrico Peritoneal de Fêmeas, Grupo III (F). *indica diferença estatística significativa em relação ao grupo controle. Cont: prole oriundas de ratas controle. Exp: prole oriundas de ratas expostas ao IR3535.



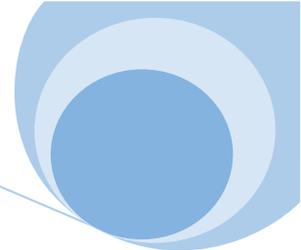


O evento inflamatório é complexo e dinâmico e implica numa série de adaptações fisiológicas e morfológicas mediadas a partir da interação dos vasos sanguíneos, parte líquida e elementos figurados do sangue (MARTINS *et al.*, 1989). A etapa inicial da cascata inflamatória depende de uma vasodilatação resultante de mediadores químicos locais, tendo o óxido nítrico (NO) como um dos compostos vasoativos mais relevantes (TOMAZINI; ANDRADE & MÁXIMO, 2019), essa substância é liberada a partir das células endoteliais. Após a sua secreção, ele difunde-se para as células musculares onde ativa a enzima guanilato ciclase (GC), causando aumento nos níveis de guanosina monofosfato cíclico (cGMP). O aumento nos níveis de cGMP diminui a quantidade de Ca^{2+} livre na célula muscular, causando seu relaxamento (QUEIROZ & BATISTA, 1999). A vasodilatação é o gatilho para que os eventos subsequentes se procedem - como o aumento da permeabilidade capilar e a migração leucocitária para o tecido lesionado (ABBAS *et al.*, 2013).

O papel biológico do NO é tão expressivo, que qualquer redução drástica em sua biodisponibilidade tende a desencadear eventos adversos (TOMAZINI; ANDRADE & MÁXIMO, 2019). No presente estudo, foi observada uma redução do óxido nítrico tanto na prole oriunda de mães expostas durante a gestação quanto na amamentação, e foi lançada a hipótese de que essa redução foi um dos agentes responsáveis pelo déficit da migração leucocitária descrita anteriormente, pois com a queda dos níveis de NO, prejudicaria o evento pioneiro da cascata inflamatória – a vasodilatação – e com isso os demais passos ficariam comprometidos em sequência.

4. CONCLUSÃO

A redução qualitativa observada na série das células brancas do sangue a partir do comprometimento da migração leucocitária foi associada a uma redução dos níveis de óxido nítrico, o que por sua vez, evidencia um processo de imunodepressão na prole de ratas expostas ao componente IR3535 durante o período gestacional e de lactação, evidenciando um potencial imunotoxicológico desse composto sobre a descendência e sua capacidade de transferência via placenta e aleitamento materno.



4. REFERÊNCIAS

ABBAS A. K.; *et al.* Robbins Patologia Básica: Robbins Patologia Básica. Elsevier Health Sciences, 2013.

AMORIM L. C. A. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. Revista Brasileira de Epidemiologia, v. 6, n. 2, p. 158-170, 2003.

ANDERSOHN F.; KONZEN C.; GARBE E. Annals of internal medicine review systematic review : Agranulocytosis induced by nonchemotherapy. Annals of Internal Medicine, v. 146, n. 9, p. 657-65, 2007.

BALLARD H. S. Alcohol-associated pancytopenia with hypocellular bone marrow. American journal of clinical pathology, v. 73, n. 6, p. 830-834, 1980.

BEARD J. D.; *et al.* Hematopoietic response to experimental chronic alcoholism. American Journal of Medical Sciences, v. 252, p. 518-525, 1966.

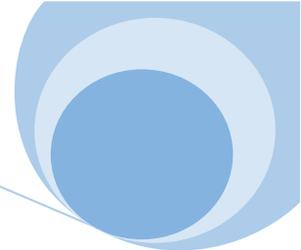
BRIDGES D. W.; CECH JR J. J.; PEDRO D. N. Seasonal hematological changes in winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*. Transactions of the American Fisheries Society, v. 105, n. 5, p. 596-600, 1976.

BROSCHARD T. H.; *et al.* Biotransformation and toxicokinetics of the insect repellent IR3535® in male and female human subjects after dermal exposure. Toxicology letters, v. 218, n. 3, p. 246-252, 2013.

BROWN M.; *et al.* Insect repellents: an overview. Journal of the American Academy of Dermatology, v. 36, n. 2, p. 243-249, 1997.

CORRALO V. S.; *et al.* Presença de pesticidas organoclorados no leite materno: fatores de contaminação e efeitos à saúde humana. Hygeia, v. 12, n. 22, p. 101-109, 2016

GROSS B. J.; *et al.* Bone marrow toxicity in vitro of chloramphenicol and its metabolites. Toxicology and applied pharmacology, v. 64, n. 3, p. 557-565, 1982.



HOFBAUER R.; SPEISER W.; KAPIOTIS S. Ibuprofen inhibits leukocyte migration through endothelial cell monolayers. *Life sciences*, v. 62, n. 19, p. 1775-1781, 1998.

HUNTINGTON M. K.; ALLISON J.; NAIR D. Emerging vector-borne diseases. *American family physician*, v. 94, n. 7, p. 551-557, 2016.

KAPIOTIS S.; *et al.* Ibuprofen inhibits pyrogen-dependent expression of VCAM-1 and ICAM-1 on human endothelial cells. *Life sciences*, v. 58, n. 23, p. 2167-2181, 1996.

KATZ T. M.; MILLER J. H.; HEBERT A. A. Insect repellents: historical perspectives and new developments. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 58, n. 5, p. 865-871, 2008.

LIU Y. K. Leucopenia em alcoolistas. *The American journal of medicine*, v. 54, n. 5, p. 605-610, 1973.

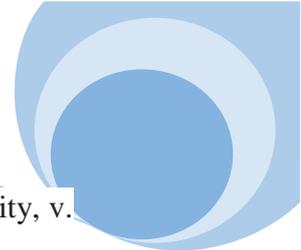
MARTINES R. Brasil. Notes from the field: evidence of Zika virus infection in brain and placental tissues from two congenitally infected newborns and two fetal losses—Brazil, 2015. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, v. 65, 2016.

MARTINS D. A. A. S.; *et al.* Efeitos de paracetamol na permeabilidade capilar e migração leucocitária: estudo experimental em camundongos (*M. musculus*), 1989.

MCFARLAND W.; LIBRE E. P. Abnormal leukocyte response in alcoholism. *Annals of internal medicine*, v. 59, n. 6, p. 865-877, 1963.

MLAKAR J.; *et al.* Zika virus associated with microcephaly. *New England Journal of Medicine*, v. 374, n. 10, p. 951-958, 2016.

NEUMANN N. F.; BARREDA D.; BELOSEVIC M. Production of a macrophage growth factor (s) by a goldfish macrophage cell line and macrophages derived from goldfish kidney leukocytes. *Developmental & Comparative Immunology*, v. 22, n. 4, p. 417-432, 1998.



NOURSHARGH S.; ALON R. Leukocyte migration into inflamed tissues. *Immunity*, v. 41, n. 5, p. 694-707, 2014.

PAUMGARTTEN F. J. R.; *et al.* Repelentes de mosquitos, eficácia para prevenção de doenças e segurança do uso na gravidez, 2016.

QUEIROZ S. L.; BATISTA A. A. Funções biológicas do óxido nítrico. *Química Nova*, v. 22, n. 4, p. 584-590, 1999.

ROCHA A. S. Toxicidade Aguda e Subaguda do Triclorfon em juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1836), 2009.

SVOBODOVA Z.; VYKUSOVA B.; MACHOVA J. The effects of pollutants on selected haematological and biochemical parameters in fish, 1994.

TAVARES M.; *et al.* Trends in insect repellent formulations: A review. *International journal of pharmaceutics*, v. 539, n. 1-2, p. 190-209, 2018.

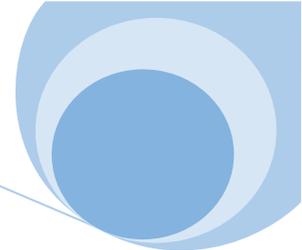
TOMAZINI L. N.; ANDRADE W. H. N.; MÁXIMO L. N. C. Óxido nítrico: uma breve revisão sobre aspectos históricos, estrutura química e algumas aplicações relevantes para o corpo humano. *Multi-Science Journal*, v. 2, n. 2, p. 82-88, 2019.

VENTURINI F. P.; *et al.* Efeitos da exposição à lambda-cialotrina no teleósteo *Brycon amazonicus*: metabolismo antioxidante, parâmetros histológicos e hematológicos, 2014.

WEAVER S. C.; *et al.* Zika, chikungunya, and other emerging vector-borne viral diseases. *Annual review of medicine*, v. 69, p. 395-408, 2018.

WINTROBE M. M. Anemia: classification and treatment on the basis of differences in the average volume and hemoglobin content of the red corpuscles. *Archives of internal medicine*, v. 54, n. 2, p. 256-280, 1934.

WHO; *et al.* Biological monitoring of chemical exposure in the workplace: guidelines. *Wo.*



Capítulo 21

ATIVIDADE IMUNOMODULADORA DE PECTINAS DAS CASCAS DE GOIABA (*Psidium guajava* L.) EM CULTIVO PRIMÁRIO DE MACRÓFAGOS

Victoria C Cavalari¹, Hellen P Bertasso¹, Lucia C Vriesmann², João LC Ribas³

¹Acadêmicas de Biomedicina, Universidade Positivo, Curitiba-Paraná.

²Centro Universitário Campos de Andrade - Uniandrade, Curitiba-Paraná

³Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial, Universidade Positivo, Curitiba-Paraná

1. INTRODUÇÃO

O Brasil detém uma diversidade de fauna e de flora com potenciais ainda a serem explorados. A existência de diferentes biomas dentro do território nacional propicia um acervo de plantas medicinais endêmicas que ainda são pouco conhecidas, e desse modo constituem um fascinante assunto de pesquisa acadêmica e de desenvolvimento (PINTO *et al.*, 2002). Nesse contexto, os componentes vegetais são de grande estima, principalmente os metabólitos secundários, que apesar de não serem fundamentais aos processos metabólicos das plantas, possuem papel na interação delas com seu ambiente (NAMDEO *et al.*, 2007) além de terem vasta aplicação nos setores biotecnológico e farmacológico (SEYFRIED *et al.*, 2016). Diante do exposto, as pectinas são polissacarídeos ácidos presentes na parede celular de todas as plantas terrestres (OLIVEIRA, 2013), mais especificamente na lamela média e parede celular primária (MARIĆ *et al.*, 2018).

No contexto estrutural, as pectinas são formadas por polímeros em blocos, contendo em sua cadeia principal blocos de homogalacturonana (HG) e ramnogalacturonana tipo I (RG-I), algumas ainda apresentam a ramnogalacturonana tipo II (RG-II). A cadeia principal fundamentalmente apresenta ácido galacturônico, e as regiões de ramificação mostram moléculas de açúcares neutros com ramnose, arabinose, xilose, galactose, fucose, manose, e glucose, levando a uma variedade estrutural que se relaciona



aos diferentes tipos e propriedades de cada pectina (VRIESMANN & PETKOWICZ, 2013).

Além da importância para o vegetal, as pectinas têm grande potencial econômico, podendo ser empregadas na indústria alimentícia como espessante, texturizante, emulsificante ou estabilizante (COELHO, 2008), na indústria farmacêutica como, por exemplo, em revestimento de comprimidos (SRIAMORNSAK, 2003) e na cosmetologia (CRISTIANO *et al.*, 2014).

Notavelmente, estudos protagonizados por MORAIS-BRAGA *et al.*, (2016) relataram a eficácia de pectinas contra 34 espécies bacterianas, 19 espécies de fungos, 6 espécies de protozoários e 4 tipos de vírus, ilustrando o potencial desse polissacarídeo frente a agentes infecciosos, o que permite classificar a pectina como um modificador da resposta imunológica (DIALLO *et al.*, 2001; SEYFRIED *et al.*, 2016).

Nesse contexto, esse trabalho tem como objetivo avaliar a modulação da resposta imune mediada por pectinas da casca da goiaba *Psidium guajava L.*, com foco na sua ação sob citocinas quimioatraentes e moduladoras.

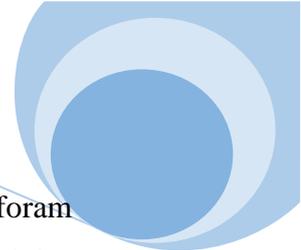
2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. PREPARAÇÃO DA PECTINA

As amostras de pectinas foram extraídas das cascas de goiaba com água em temperatura ambiente, seguida por água fervente, apenas com água fervente, ou com solução aquosa ácida, resultando em quatro frações de pectinas desidratadas, denominadas respectivamente A, SAF, AF e HA. A solubilização das frações pecticas foi realizada em meio RPMI (10% SFB), mantendo-se em incubadora a 37°C com 5% de CO₂ por 24 horas até completa solubilização (MARENDA *et al.*, 2015).

2.2. PREPARAÇÃO E OBTENÇÃO DO SOBRENADANTE DE MONOCAMADAS DE MACRÓFAGOS

Após a obtenção dos macrófagos peritoneais de camundongos Swiss fêmeas, as células coletadas foram centrifugadas (400 × g por 30 min a 4°C), lavadas e colocadas em meio de cultura RPMI, contendo 1% de penicilina/estreptomicina, e 20 U.mL⁻¹ de



heparina, mantidos em banho de gelo. Após a lavagem e centrifugação, as células foram contadas em Câmara de Neubauer, ajustadas para 1.10^6 células.mL⁻¹ e ressuspensas em meio RPMI, 0,1 % soro fetal bovino, 1% penicilina/estreptomicina e 20U.mL⁻¹ de heparina. Os macrófagos isolados foram colocados em placa de cultivo celular de 96 poços, com volume de 100µL/poço, e incubados por 20 min para aderência. Após esse tempo elas foram lavadas e expostas a 0,5 ng/mL; 5 ng/mL e 50 ng/mL de pectina. O controle negativo foi realizado com PBS e o positivo com lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* sorotipo 0111:B4 (LPS). A monocamada de células aderentes foi reincubada por 4 horas para medida do óxido nítrico, TNF- α , IL-1 β e IL-10 em seu sobrenadante. Todas as exposições foram realizadas em triplicatas.

2.3. VIABILIDADE CELULAR

A viabilidade celular foi avaliada por meio da análise colorimétrica, com o corante MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio), segundo a técnica de MOSMANN (1983). Por essa técnica, após 48h de incubação das células, foram adicionados 100µL de MTT e a placa foi novamente incubada. Após 2 h, a reação foi bloqueada com a solução ácida de SDS a 10%. A medida da absorbância foi realizada após 10 min em comprimento de onda de 550 nm.

2.4. DETERMINAÇÃO DO ÓXIDO NÍTRICO, TNF-ALFA, IL-1B E IL-10

Após a incubação, o óxido nítrico foi determinado usando o método modificado por NEUMANN; BARREDA & BELOSEVIC (1998), baseado na reação de Griess. A leitura da absorbância foi realizada 10 minutos após o início da reação, e a quantidade de óxido nítrico produzida foi expressa em µmol.L⁻¹. Para a determinação do TNF-*alfa*, IL-1 β e IL-10, estes foram quantificados por testes comerciais de Elisa, de acordo com as instruções de cada kit.

2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos das análises foram avaliados através da análise de variância – ANOVA, seguida pelo teste de Bonferroni. As análises estatísticas foram conduzidas utilizando GraphPad Software V.2.01, GraphpadInstat-TM (1990-1993). Os resultados

foram expressos como média \pm EPM (erro padrão da média). O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha=0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

VIABILIDADE CELULAR

A partir do ensaio de MTT, observou-se que as concentrações empregadas (0,5 ng/mL; 5ng/mL; 50 ng/mL) foram inócuas aos macrófagos murinos, uma vez que não houve alteração expressiva na viabilidade celular em relação ao controle. Esses dados assemelham-se a aqueles encontrados por JANG *et al.*, (2014), onde os extratos da folha de goiaba não tiveram efeito na viabilidade celular quando testadas em células murinas RAW264.7, mesmo em concentrações superiores àquelas testadas no presente trabalho (5, 10, 30 e 50 $\mu\text{g/mL}$).

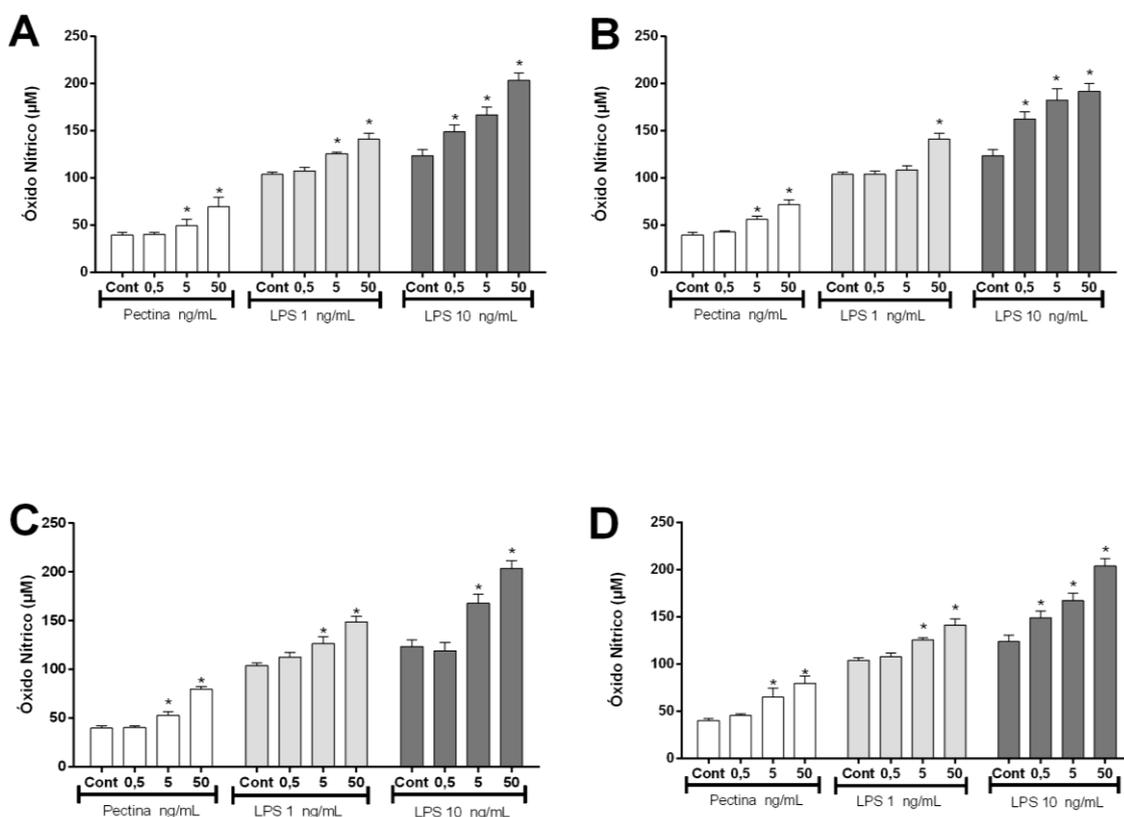
DETERMINAÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO

Conforme mostra a Figura 1, no presente trabalho observou-se um aumento significativo na produção de óxido nítrico pelos macrófagos nas duas maiores concentrações (5, 50 ng/mL) de todas as frações pécnicas testadas (A, SAF, AF e HA). Após desafio com LPS na concentração de 1,0 e 10,0 ng/mL, houve um aumento significativo na produção de óxido nítrico, comparado com o controle, nas frações A, AF, HA (5 e 50 ng/mL para 1,0 ng/mL de LPS e em 0,5; 5,0 e 50,0 ng/mL para 10,0 ng/mL de LPS) e SAF (50 ng/mL para 1,0 ng/mL de LPS e em 0,5; 5,0 e 50,0 ng/mL para 10,0 ng/mL de LPS) com $p<0,0001$.

O óxido nítrico é produzido pelo óxido nítrico-sintase (NOs), e a sua isoforma iNOs é expressa como resultado de uma resposta inflamatória - oriunda de uma infecção ou dano tecidual (CERQUEIRA & YOSHIDA, 2002). Essa injúria pode ser simulada “*in vitro*” por LPS. Como pode ser verificado, a pectina foi capaz de estimular os macrófagos a secretar óxido nítrico, entrando em consonância com o trabalho de AMORIM *et al.*, (2016), que utilizaram pectina oriunda de cascas de cacau (*Theobroma cacao* L.), nas concentrações de 100 e 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e verificaram a ocorrência de um estímulo na produção de óxido nítrico em níveis superiores aos encontrados pelo LPS.

Dessa forma, esses resultados permitem demonstrar que a pectina atua de forma imunoestimulante.

Figura 1. Produção de óxido nítrico após exposição de cultivo primário de macrófagos peritoneais às pectinas extraídas da casca da goiaba. Exposição na presença ou ausência de LPS da fração A (A). Exposição na presença ou ausência de LPS da fração SAF (B). Exposição na presença ou ausência de LPS da fração AF (C). Exposição na presença ou ausência de LPS da fração HA (D). * p=0,0001.



Ainda mais notável foi o tratamento concomitante da pectina com LPS, gerando uma potencialização da secreção de óxido nítrico pelos macrófagos peritoneais murinos. Esse resultado pode estar correlacionado com o fato de a pectina ser capaz de utilizar os mesmos receptores de macrófagos a polímeros bacterianos (MELLINGER *et al.*, 2008) o que levaria a uma ativação dos macrófagos em direção a aniquilação do microrganismo invasor (SCHEPETKIN & QUINN, 2006).

DETERMINAÇÃO DE TNF- α , IL-1 β E IL-10

Observou-se, também, um aumento das citocinas TNF-*alfa* (Figura 2), IL-1 β (Figura 3) e IL-10 (Figura 4) nas três concentrações testadas das quatro frações de pectina. Com estímulo com LPS (1,0 ng/mL), não houve aumento significativo na dosagem de TNF- α em relação ao controle com LPS (Figura 2), porém ocorreu uma redução na dosagem de IL-1 β para as frações SAF (5ng/mL) e HA (0,5; 5,0; 50 ng/mL) quando comparadas ao controle de LPS (Figura 3). Já para a IL-10, ocorreu aumento dos níveis na fração SAF (50ng/mL), na fração AF (0,5; 5,0; 50ng/mL) e na fração HA (5,0 e 50 ng/mL) quando comparado ao controle LPS (Figura 4), apresentando $p < 0,0001$.

Figura 2. Dosagem de TNF- α após exposição de cultivo primário de macrófagos peritoneais às pectinas extraídas da casca da goiaba. Exposição na presença ou ausência de LPS da fração A (A). Exposição na presença ou ausência de LPS da fração SAF (B). Exposição na presença ou ausência de LPS da fração AF (C). Exposição na presença ou ausência de LPS da fração HA (D) * $p=0,0001$.

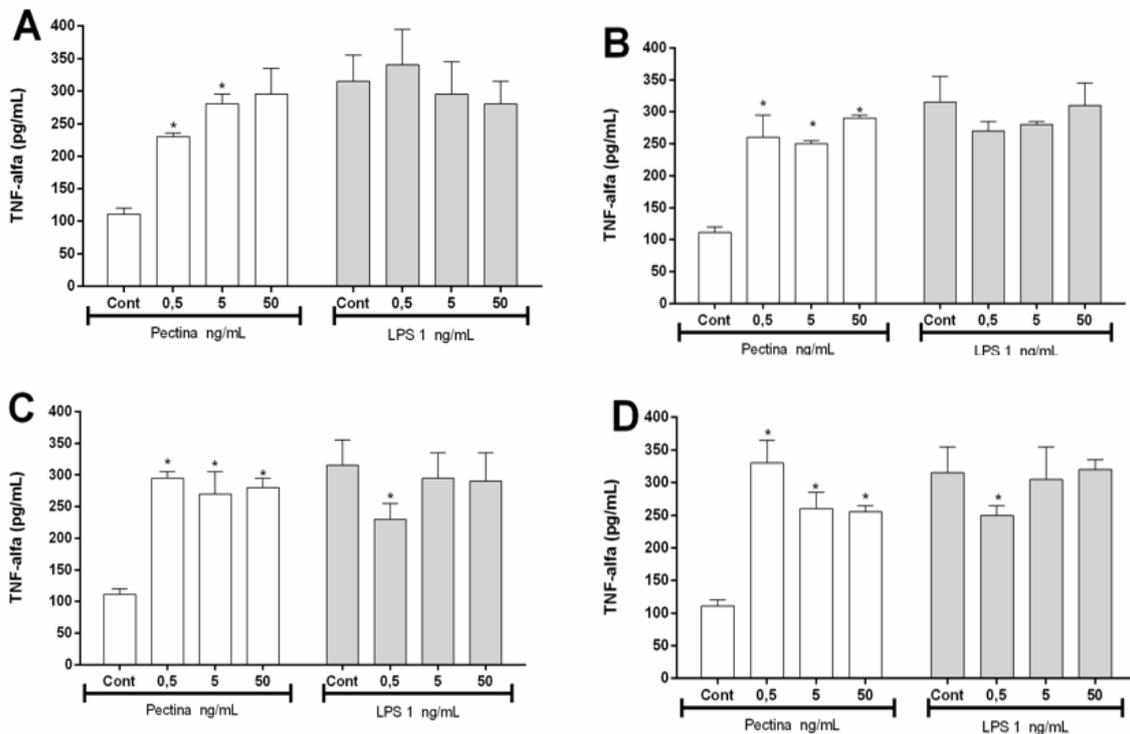
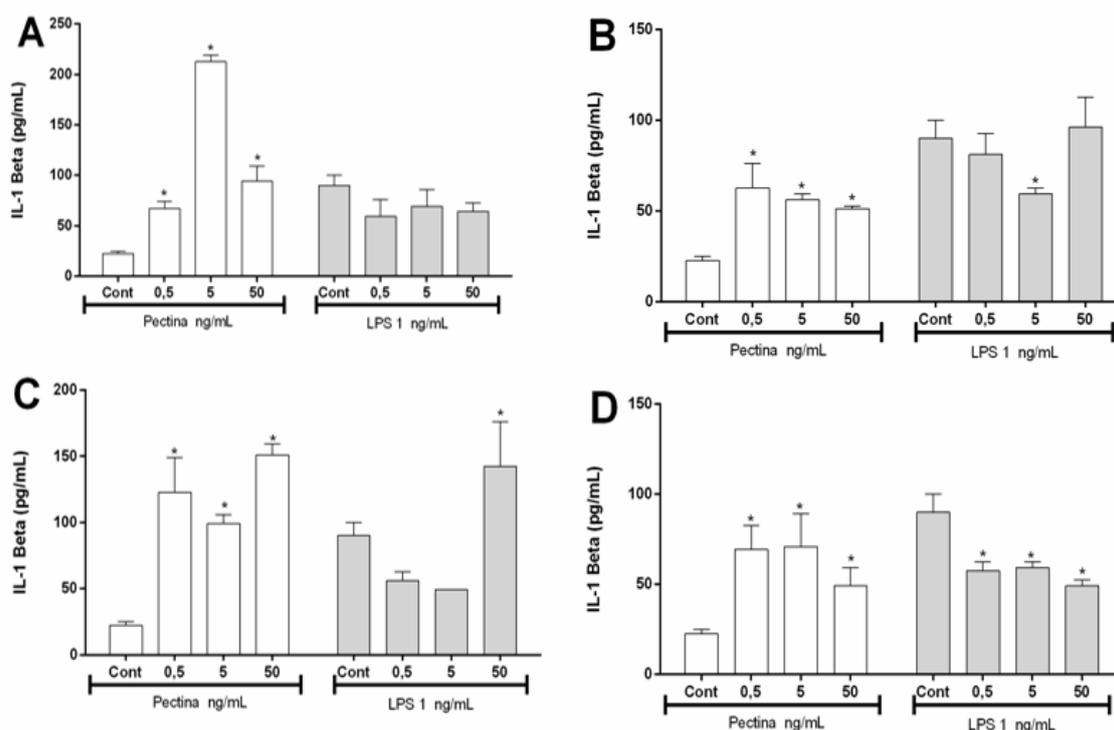


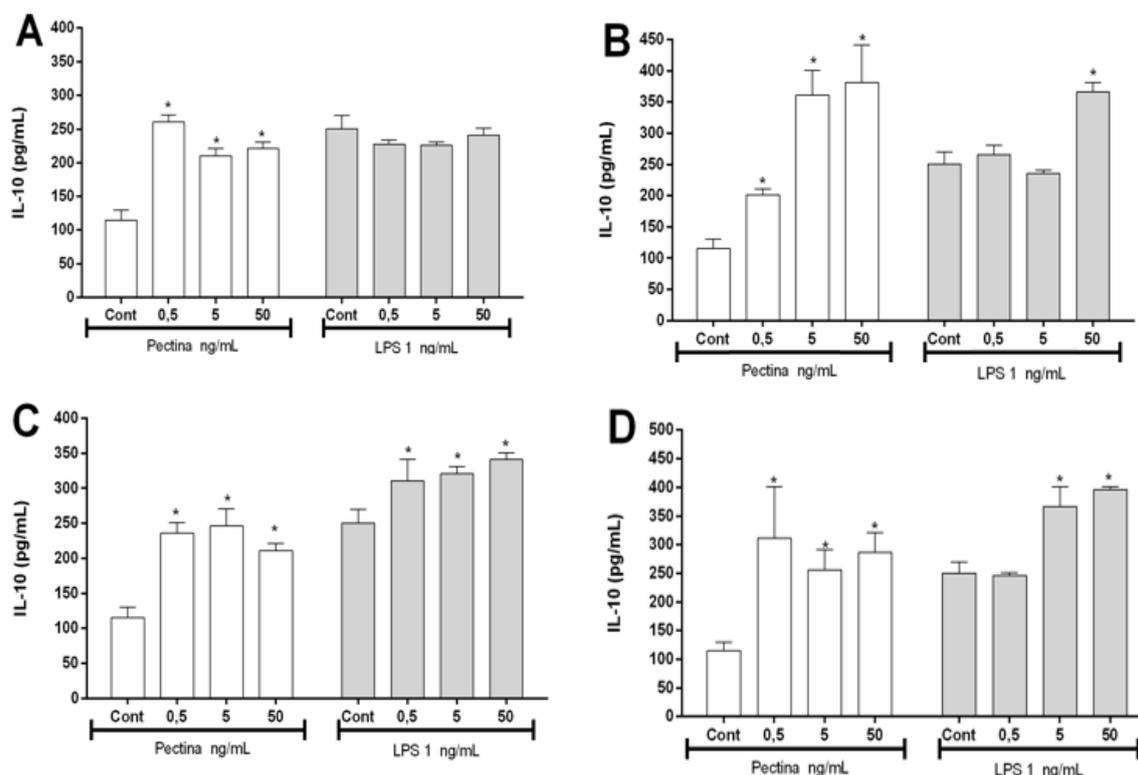
Figura 3. Dosagem de IL-1 β após exposição de cultivo primário de macrófagos peritoneais às pectinas extraídas da casca da goiaba. Exposição na presença ou ausência de LPS da fração A (A). Exposição na presença ou ausência de LPS da fração SAF (B). Exposição na presença ou ausência de LPS da fração AF (C). Exposição na presença ou ausência de LPS da fração HA (D). * p=0,0001.



As células sentinelas como macrófagos e granulócitos são capazes de liberar citocinas de acordo com as necessidades de diferentes células do sistema imunológico por meio de uma variedade de vias secretoras e pelas ações de moléculas reguladoras específicas (STOW *et al.*, 2009). Por isso, a quantificação de citocinas permite compreender a atuação de uma dada molécula no organismo.

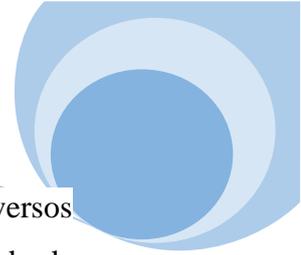
Nesse trabalho, foi identificado que pectinas são capazes de estimular os macrófagos, pois além de terem promovido o aumento do óxido nítrico, foram capazes também de elevar o nível de citocinas. AMORIM *et al.*, (2016) observaram o aumento tanto de citocinas anti-inflamatórias (IL-10) quanto de pró-inflamatórias (TNF- α e IL-12) ao empregar uma fração de pectinas acetiladas isoladas da casca de frutos do cacau (*Theobroma cacao* L) e sua forma parcialmente desacetilada e desesterificada.

Figura 4. Dosagem de IL-10 após exposição de cultivo primário de macrófagos peritoneais às pectinas extraídas da casca da goiaba. Exposição na presença ou ausência de LPS da fração A (A). Exposição na presença ou ausência de LPS da fração SAF (B). Exposição na presença ou ausência de LPS da fração AF (C). Exposição na presença ou ausência de LPS da fração HA (D). * p=0,0001.



O que chamou a atenção foi a análise das citocinas IL-10 e IL-1 β , pois embora ambas tenham sido aumentadas frente o tratamento apenas com a pectina (conferindo novamente a propriedade imunoestimulante desse polissacarídeo), foi observado um balanço dessas duas interleucinas mediante o tratamento concomitante com LPS, ou seja, na presença de LPS foi observado que ocorreu uma redução da dosagem de IL-1 β e uma elevação da quantidade de IL-10, o que mostra uma tendência da pectina atuar na resolução do processo inflamatório gerado pelo LPS. Dessa forma, frente a uma injúria ou dano ao organismo a pectina passaria a atuar de maneira anti-inflamatória.

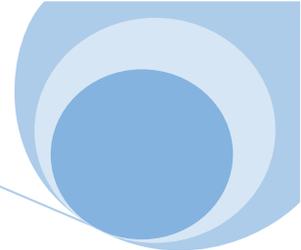
Popov *et al.*, (2013) ao estudarem a atividade de pectinas cítricas em diferentes graus de metil-esterificação, também reportaram a ação anti-inflamatória destes polissacarídeos e ainda acrescentaram que as propriedades químicas, ou seja, a composição e estrutura da cadeia de ácido galacturônico, afetam diretamente a atividade fisiológica das pectinas.



Sendo assim, para a aplicação prática desse polissacarídeo aos mais diversos setores econômicos e da saúde, faz-se necessária uma análise minuciosa do método de extração a ser empregado, bem como o conhecimento da composição da cadeia química, para que se possa atingir as propriedades desejadas.

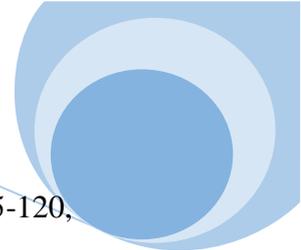
4. CONCLUSÃO

As pectinas da casca de goiaba, além de serem isentas de citotoxicidade, possuem atividade imunomoduladora, evidenciada pela sua capacidade de elevar a produção de óxido nítrico e das citocinas avaliadas, além de demonstrarem um caráter anti-inflamatório frente a um estímulo inflamatório ou lesivo.



5. REFERÊNCIAS

- AMORIM J. C.; *et al.* Modified pectin from *Theobroma cacao* induces potent pro-inflammatory activity in murine peritoneal macrophage. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 92, p. 1040-1048, 2016.
- CERQUEIRA N. F.; YOSHIDA, W. B. Óxido nítrico: revisão. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 17, n. 6, p. 417-423, 2002.
- COELHO M. T. Pectina: Características e aplicações em alimentos. *Disciplina de Seminário de Alimentos*. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2008.
- CRISTIANO M. C.; *et al.* Rheological studies in food chemistry: state of the art. *Adv Food Saf Health*, v. 6, p. 3-19, 2014.
- DIALLO D.; *et al.* Polysaccharides from the roots of *Entada africana* Guill. et Perr., Mimosaceae, with complement fixing activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v.74, p.159-171, 2001.
- JANG M.; *et al.* Anti-inflammatory effects of an ethanolic extract of guava (*Psidium guajava* L.) leaves in vitro and in vivo. *Journal of Medicinal Food*, v. 17, n. 6, p. 678-685, 2014.
- MARENDA F. R. B.; *et al.* Citotoxicidade de pectinas do albedo de maracujá (*Passiflora edulis flavicarpa*) em linhagens tumorais, 2015.
- MARIĆ M.; *et al.* An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. *Trends in Food Science & Technology*, v. 76, p. 28-37, 2018.
- MELLINGER C. G.; *et al.* Chemical and immunological modifications of an arabinogalactan present in tea preparations of *Phyllanthus niruri* after treatment with



gastric fluid. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 43, p. 115-120, 2008.

MORAIS-BRAGA M. F. B.; *et al.* *Psidium guajava* L., from ethnobiology to scientific evaluation: Elucidating bioactivity against pathogenic microorganisms. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 194, p. 1140-1152, 2016.

MOSMANN T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

NAMDEO A. G.; *et al.* Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. *Pharmacognosis Reviews*, v. 1, n. 1, p. 69-79, 2007.

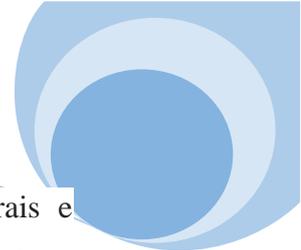
NEUMANN N. F.; BARREDA D.; BELOSEVIC M. Production of a macrophage growth factor (s) by a goldfish macrophage cell line and macrophages derived from goldfish kidney leukocytes. *Developmental & Comparative Immunology*, v. 22, n. 4, p. 417-432, 1998.

OLIVEIRA A. N. Pectinas de casca de manga (*Mangífera índica* L.) Cv. Ubá: otimização da extração, caracterização físico-química e avaliação das propriedades espessantes e gelificantes”. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia em Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2013.

PINTO A. C.; *et al.* Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. *Química nova*, p. 45-61, 2002.

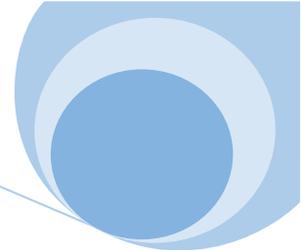
POPOV S. V.; *et al.* Anti-inflammatory activity of low and high methoxylated citrus pectins. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, v. 3, n. 1, p. 59-63, 2013.

SCHEPETKIN I. A.; QUINN M; T. Botanical polysaccharides: macrophage immunomodulation and therapeutic potential. *International Immunopharmacology*, v. 6, n. 3, p. 317-333, 2006.



SEYFRIED M.; *et al.* Pectinas de plantas medicinais: características estruturais e atividades imunomoduladoras. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 18, n. 1, p. 201-214, 2016.

SRIAMORNSAK P. Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: A review. *Silpakorn University International Journal*, v. 3, n. 1-2, p. 206-228, 2003.



Capítulo 22

COMPETÊNCIAS GRUPAIS DE BIOMÉDICOS NA GESTÃO DE HOTELARIA HOSPITALAR

Roseli Delfino¹, Paula SS Kuabara²

¹Tecnóloga em Gestão Hospitalar, Curitiba/Pr.

²Prof^ª. Dr^ª. Faculdade Inspirar, Curitiba/Pr.

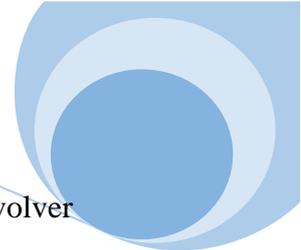
1. INTRODUÇÃO

Os estudos sobre o ambiente hospitalar voltados à hotelaria hospitalar consolidaram-se a partir da década de 2000, como um assunto de grande relevância para os interesses de pesquisadores e organizações de saúde (SILVA & RUAS, 2016). A gestão de hotelaria hospitalar passou a ser vista como uma nova oportunidade de transformar o estereótipo de hospital frio e os cuidados humanizados sejam visualizados na forma de um novo modelo de gestão, não somente com visão de centro de custos para a instituição.

É por meio do atendimento que todo o envolvimento com o paciente se fortalece, sendo importante que seja oferecido atendimento assistencial digno sendo hospitaleiro e os pacientes de sintam acolhidos. Diante dessa perspectiva é possível perceber que a relação humana seja intensificada por meio do acolhimento, fazendo com o que o paciente se satisfaça e possa vir a se fidelizar-se a instituição pela forma de ser atendido pelos colaboradores da instituição (GONÇALVES & FERREIRA, 2013).

Sendo assim, a qualidade no atendimento se tornou um diferencial para distinguir as competências grupais e organizacionais, refletindo como um todo na assistência e tratamento ao paciente, tendo uma visão holística para os pacientes e os acompanhantes (ASSIS & OLIVEIRA, 2012).

As transformações no atendimento na área da saúde vão além do que se considera necessário e suficiente na hotelaria clássica para a competição no meio hospitalar. Para tanto, os setores que estão diretamente ligados a prestação de



atendimento ao paciente apresentam grande significado pois poderão vir a desenvolver melhorias e fortalecer o compromisso em prol do atendimento humanizado nos processos de recepção, internação e alta hospitalar.

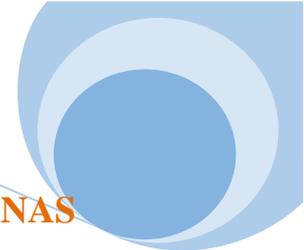
Conforme indica Perinazzo *et al.*, (2015), é importante que os profissionais de saúde realizem uma reflexão sobre as situações éticas atuais e como estão sendo desenvolvidas no âmbito profissional, se realmente a assistência é qualificada e humanizada.

Um profissional que tem o potencial de apoiar a gestão hospitalar e a hotelaria hospitalar é o biomédico, com seu conhecimento sobre os problemas de saúde que afetam os seres humanos, como também na transferência de saber à comunidade e demais profissionais comprometidos com a melhoria das condições de saúde da sociedade (CARRILLO, 2017). Conforme destaca Lima *et al.*, (2014), a multidisciplinaridade da formação favorece sua inclusão no ambiente hospitalar e possibilita a visibilidade do perfil de competência desse profissional no apoio ao atendimento à saúde.

Sendo assim, considera-se que o profissional biomédico uma peça-chave para equipes multiprofissionais da área da saúde, podendo colaborar na prevenção, monitoramento das doenças como o diagnóstico, bem como na promoção de saúde e na qualidade de vida (COSTA; TRINDADE & PEREIRA, 2010). Portanto, a gestão da hotelaria hospitalar e a humanização do atendimento ao paciente e seus acompanhantes, por meio das competências dos profissionais da área da saúde, passa a ser um elemento de atenção para as instituições de saúde se destacarem no ambiente em que atuam.

Considerando a hotelaria hospitalar como diferencial estratégico para a qualidade nos serviços prestados, torna-se necessário avaliar e adaptar melhorias nos serviços hospitalares para o alcance da vantagem competitiva. Para tanto, esta pesquisa tem como objetivo realizar um levantamento da literatura sobre como as competências grupais dos profissionais biomédicos podem apoiar as práticas de gestão de hotelaria hospitalar.

Este estudo, além desta introdução está estruturado pelo referencial teórico que aborda as discussões sobre os conceitos de hotelaria hospitalar e a humanização nas instituições de saúde, as competências grupais e do biomédico. Em seguida apresenta as reflexões sobre a construção de competências grupais para a gestão de hotelaria hospitalar.

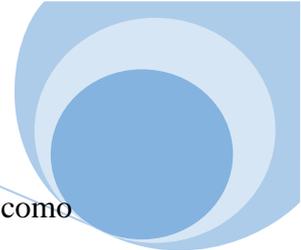


2. GESTÃO DA HOTELARIA E HUMANIZAÇÃO NAS INSTITUIÇÕES DE SAÚDE

Quando se aborda o setor de hotelaria em instituições de saúde, nos vêm a palavra hospitalidade, pois as pessoas vão até o hospital não por vontade própria, mas pela necessidade de prevenção, tratamento ou cura de doença. Analisando a concepção de hospital, hotelaria e hospitalidade, (MASCARENHAS & SOUZA, 2016) relata que o sentido das três palavras se origina do latim *hospitale*, que significa o acolhimento do paciente, satisfação e contentamento na hospedagem, pelo bem receber do paciente. Andrade (2011) ressalta que a hospitalidade é percebida quando os indivíduos, diante de atos de vulnerabilidades, recebem assistência e informações que os deixem acolhidos, seguros e tranquilos. Dessa forma, pode-se considerar que as atividades da hotelaria hospitalar estão ligadas à hospitalidade na busca pela mudança do clima de hospital para um atendimento humanizado, observando, entre outros detalhes, aspectos como entretenimento, nutrição variada, acompanhante de quarto, caixas eletrônicos, lembranças de datas comemorativas que possibilitem maior conforto e interação com o cotidiano externo a quem faz uso da estrutura hospitalar.

De acordo com Oliveira *et al.*, (2012), o histórico da hotelaria hospitalar no Brasil consolidou-se com a vinda da família Real ao Brasil em 1808, que levou a um aumento do fluxo de comerciantes e diplomatas no Brasil e a busca pelo bem-estar passou a ter destaque com a finalidade de proporcionar satisfação aos visitantes. Conforme destacam Silva & Ferreira, (2014), o Brasil é considerado um país referência em hospitalidade e seus habitantes têm a imagem de serem hospitaleiros como virtude. Ribeiro (2013), aponta que as práticas voltadas à hotelaria hospitalar são formas de quebrar o paradigma do estereótipo da estrutura de hospital que se tinha como concepção anteriormente, sendo a implementação das mudanças um modo de adaptação, modificação e introdução da instituição em um mercado onde há muita concorrência e procura pela qualidade em atendimento para a saúde.

As atividades de atendimento, semelhantes às que se observam quando se trata de hotéis, ao serem implementadas em instituições de saúde é o que configura a hotelaria hospitalar, a diferença é que o paciente vai ao hospital com sentimento de tristeza, dúvidas quanto ao tratamento de saúde, já o turista vai com a intenção de lazer (SILVA & FERREIRA, 2014). Em prol do bem-estar social, psicológico e emocional

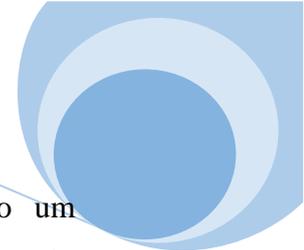


para pacientes, familiares e colaboradores, estes passaram a ser reconhecidos como clientes pela sua exigência na busca pela qualidade de atendimento ao manter o tratamento da cura durante sua estadia.

Nesse contexto é possível verificar que a hotelaria hospitalar exerce a função de desenvolver um relacionamento de hospitalidade e acolhimento, fazendo com que o paciente se sinta confiante e seguro no ambiente de tratamento de saúde. O significado de qualidade passou por diversas fases de definições e é dependente do que se tem como referência na atualidade, por exemplo, a inclusão das atividades de hotelaria adaptadas ao hospital para aprimoramento do atendimento médico-hospitalar. Pode-se dizer que a gestão de qualidade nos dias de hoje é um ponto estratégico, pois é preciso conhecer os pacientes para que se possa conhecer o que pensam e desejam (SILVA & FERREIRA, 2014).

Em sua pesquisa, Fedrizzi (2009) relata a importância de fragmentar a categoria hospitalar para que seja possível interpretar de forma mais coerente as necessidades em cada momento do atendimento, de acordo com suas especificidades. Dessa forma é possível identificar os elementos que envolvem os serviços a oferecer, buscando um tratamento humanizado (SILVA & FERREIRA, 2014).

A humanização na área da saúde, na perspectiva de Garcia *et al.*, (2016), tem grande dimensão referente ao seu significado, relacionando aos cuidados com outra pessoa, na prestação de serviços com base na ética, dignidade, sensibilidade e empatia. Apesar da importância do atendimento humanizado, Waldow & Borges (2011), esclarecem que a desumanização é mais fácil de explicar do que a palavra humanização, pois compreende a perda de qualidades do ser humano em suas atitudes. Muitas vezes os colaboradores não dispõem de tempo para realizar ações além da assistência técnica, devido à sobrecarga de serviços. O colaborador que se apresenta com desgaste emocional, cansaço, desânimo e desmotivação, acaba deixando transparecer esses sentimentos durante a relação com o paciente ou até mesmo refletindo nos cuidados assistenciais. Os pacientes em ambiente hospitalar já se encontram vulneráveis, fragilizados e inseguros. Nesse sentido, Garcia *et al.*, (2016) relata a humanização hospitalar como algo complexo, porém, faz-se necessário que esta realidade seja alterada focando na qualidade e na ética do cuidar dentro dos hospitais ou onde se faça necessário cuidar de uma pessoa.



Portanto, alcançar uma equipe multidisciplinar pode ser considerado um caminho para que as instituições de saúde possam aproveitar as competências de cada grupo profissional para que possa trabalhar a gestão da hotelaria como diferencial.

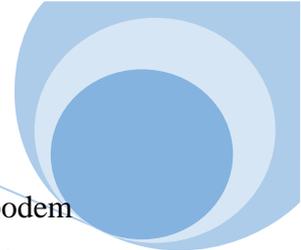
3. COMPETÊNCIAS GRUPAIS

O ambiente competitivo das organizações modernas reflete a necessidade de uma estrutura organizacional mais flexível para o compartilhamento de aprendizados entre seus membros. Esse movimento implica na geração de condições para a promoção de equipes de alto desempenho para que a aprendizagem em equipe possa criar valor e ampliar a visão da equipe para a inovação (CEJAS, 2005).

A gestão é um procedimento que estabelece processos para a criação de um ambiente em que os colaboradores consigam exercer suas atividades de trabalho de acordo com os objetivos definidos. Para que as organizações se tornem produtivas e com resultados consolidados positivamente é necessário a condução de processos gerenciais, utilizando seus recursos de forma mais eficaz, almejando o crescimento e colaborando com ações sociais e culturais a qual se direciona a empresa (REIS & RODRIGUES, 2011).

Em relação às mudanças vivenciadas no ambiente de atuação, as instituições passaram a se atentar para a real importância de se atualizarem na implementação de novas ações gerenciais, contribuindo para estar preparadas para a competitividade no ramo hospitalar. Dentre essas ações, a gestão por competências grupais é um elemento que as instituições podem adaptar para promover o desenvolvimento da capacidade dos colaboradores, determinando as competências primordiais para a organização e traçando o perfil de competências de cada colaborador (CARBONE *et al.*, 2006).

A gestão de competências contribui de forma a unificar os objetivos tanto individual como de grupo, por meio do gerenciamento de pessoas, integrando competência, desempenho e desenvolvimento organizacional alinhados ao cenário moderno e competitivo das organizações atuais (FLEURY & FLEURY, 2003). A competência, conforme pondera Fonseca *et al.*, (2017) é compreendida como um conjunto de conhecimentos, habilidades e atitudes, contudo, não basta somente apresentar a competência, mas também se dedicar à empresa e ter a capacidade de entrega, apresentando respostas rápidas quando necessário.

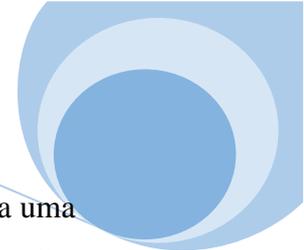


Muitas competências não são reconhecidas dentro das organizações, mas podem já se fazerem presente no cotidiano de atuação dos profissionais. Nesse sentido, Fleury & Fleury (2004) chamam a atenção para a necessidade de as instituições construírem um projeto onde se apresente uma análise geral das competências para que se torne competências atreladas à estrutura organizacional para que alcancem suas metas e competências diferenciando-se de seus concorrentes. Nesse processo, as instituições de saúde conseguirão identificar os recursos já existentes, conduzir um processo avaliativo de como esses recursos identificados poderão contribuir para o apoio as competências existentes, chegando então a decidir se é preciso a manutenção ou desenvolvimento das competências.

O desenvolvimento de grupos nas organizações de acordo com Arrow; Mcgrath & Berdahl (2000), ocorrem em quatro etapas: formação, coordenação, desenvolvimento e adaptação. A etapa de formação é o estágio inicial de construção do grupo no qual há a incorporação dos membros e a divisão das atividades a serem desempenhadas por cada sujeito. Com a definição dos propósitos do grupo, inicia-se a fase de coordenação, estabelecendo a dinâmica de interação do grupo como uma unidade coordenada de membros, tarefas e ferramentas, diminuindo o pensamento individual e ampliando o coletivo. A fase de desenvolvimento é caracterizada troca e estabilidade da integração entre os membros, trazendo maturidade em função da experiência e aprendizagem demonstrada pelo desempenho do grupo. Na fase de adaptação se ajusta e pode mudar acordos prévios considerando as exigências do contexto. É nesta última fase que os membros refletem sobre sua atuação, se haverá separação do grupo ou se manterão o engajamento para projetos futuros.

As competências dentro dos grupos são benéficas, pois gera estímulos para trabalhar juntos e conseguir alcançar as metas diante do desenvolvimento efetivo das tarefas. Cabe ressaltar que nem sempre as interações ocorrem de forma harmônica e sem conflitos ou tensões que podem inviabilizar o trabalho em grupo. Para diminuir efeitos negativos que possam ocorrer da interação grupal, as organizações realizam esforços para manter a motivação e estimular a criatividade de seus membros e buscar a solução de problemas (CEJAS, 2005).

Diante desse contexto, Baquero (2012) menciona que no Brasil a palavra empoderamento não é recente e que toda trajetória da história serviu para que seu significado apoiasse grandes movimentos sociais, permitindo que esse conceito venha a ser utilizado em vários níveis, tanto no empoderamento individual como no



empoderamento organizacional. O termo empoderamento, nesse sentido, preconiza uma abordagem do processo de trabalho que envolva a delegação do poder de decisão, autonomia e participação dos membros organizacionais nos processos de gestão para a criação de um ambiente com decisões mais coletivas e horizontais.

As novas mudanças e padrões incorporados pelas instituições por meio dos processos avançados da tecnologia estão presentes na área hospitalar. Para tanto, a criatividade e processos inovativos passam a ser alternativas que as instituições de saúde possam se destacar e a gestão de hotelaria hospitalar é considerada uma oportunidade de mudança de gestão, voltada ao atendimento de pacientes para o alcance de diferencial competitivo. Segundo Santos Filho & Mourão (2011), as instituições precisam vir a considerar um conjunto de competências muito maior do que se imaginou. "A maioria dessas competências não podem ser medidas através de testes padronizados", passam a realizar treinamento com as equipes, ressaltando o significado de empoderamento e tendo a competência individual e grupais como elementos fundamentais para que se tornem referência para seus pacientes e outras organizações.

Assim, indispensável para a atividade em grupo, a competência contribui para o reconhecimento do saber profissional do grupo, valorizando seus conhecimentos e opiniões, possibilita trocar informações com outros profissionais e agregar pessoas. O resultado da interação possibilita maior integração entre os profissionais, socializando conhecimentos com a equipe, buscando a interdisciplinaridade para a resolução das ações a serem desenvolvidas (NASCIMENTO & OLIVEIRA, 2010).

A seguir será abordado o papel do biomédico na área da saúde.

4. COMPETÊNCIAS DO BIOMÉDICO NA PREVENÇÃO DE INFECÇÃO HOSPITALAR

É possível encontrar muitos profissionais com formação multidisciplinar com atuação em diversos campos da Área da Saúde e Ciência. Em destaque, o profissional de biomedicina que, segundo Perinazzo *et al.*, (2015) ressalta, a prática de aperfeiçoamento profissional engloba uma variedade de possibilidades de atuação na saúde contemporânea, considerando um fator essencial para a evolução e aprimoramento de habilidades e competências profissionais na biomedicina. O biomédico em sua formação adquire conhecimento e habilidades sobre a relação do paciente com a saúde e a doença, sobre a importância do envolvimento da família e do



profissional, também sobre a comunicação, sobre liderança, sobre gestão administrativa e tomada de decisões no meio profissional. Além das competências técnicas e laboratoriais, o biomédico é capaz de pensamento crítico e análise dos problemas da sociedade para propor soluções.

Com o conhecimento da grade curricular e as habilidades o profissional poderá vir a ser um ótimo e competente profissional biomédico multidisciplinar, tendo a oportunidade de fazer parte do organograma de uma instituição hospitalar, ocupar um cargo de gestão ou ainda gerir um setor de hotelaria hospitalar. Magalhães (2011) ressalta que a maior dificuldade do profissional em atuar é na valorização dos conhecimentos técnicos adquiridos e não têm o reconhecimento da habilidade e competências realizada dentro da sociedade, valorizando o trabalho individual e deixando o trabalho coletivo de lado, os estudantes precisam de uma relação com a comunidade. Para tanto, é essencial que esses profissionais desenvolvam suas habilidades, usem e compartilhem suas experiências, a fim de praticar todo reconhecimento teórico profissional e multidisciplinar, relacionando-se com os gestores de outros setores que também fazem parte do organograma da instituição colocando em prática o compromisso da ética da biomedicina.

Uma área de atuação do biomédico que pode contribuir para a gestão de hotelaria hospitalar é o combate às infecções hospitalares, sendo necessário um trabalho coletivo que envolva todos os profissionais da instituição. Sob esse aspecto, o biomédico poderá ser incluso no organograma institucional, mostrando suas habilidades e desenvolvendo suas competências por meio da educação continuada, de análises críticas e construtivas, dos exames laboratoriais, da pesquisa e da ciência (MARRAS & LAPENA, 2015).

Diante desse contexto o profissional biomédico tem a possibilidade de atuar em conjunto com a gestão de hotelaria hospitalar, atuando de forma a minimizar as infecções hospitalares e potencializar a qualidade do serviço prestado no atendimento ao paciente.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As ações realizadas na hotelaria hospitalar aplicadas para prestação de serviços de melhor qualidade proporcionam mais acolhimento, comodidade e conforto aos pacientes e familiares. O resultado é percebido no empenho contínuo e crescente da



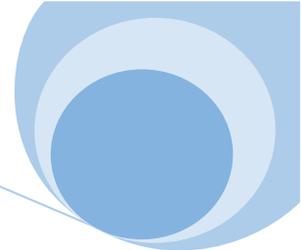
prestação de serviços, com foco voltado à humanização de processos, valorização dos profissionais através das competências e satisfação dos usuários internos e externos.

Nos dias atuais é grande a exigência das entidades hospitalares a se atualizarem com processos de gestão mais eficazes e resolutivos para que atenda a grande sociedade. Para acompanhar as necessidades de transformações tanto institucionais como estruturais, a análise das competências grupais pode ser considerada um fator importante para as instituições de saúde na busca de aprimoramento de sua qualidade e diferenciação no mercado competitivo, fidelizando seus pacientes.

Dessa forma, as atividades da hotelaria hospitalar podem ser consideradas como fatores de diferenciação no processo estratégico para a qualificação na assistência, fazendo-se necessário uma avaliação e adaptação nos serviços prestados para se obter uma vantagem competitiva. Essas transformações e mudanças na área da saúde vão além dos objetivos que se considera suficiente na hotelaria clássica.

A articulação de saberes de diferentes profissionais pode contribuir para potencializar a competência grupal em prol dos objetivos organizacionais. Nesse sentido, o profissional biomédico, como membro de um grupo pode agir para uma comunicação integrada, indispensável para o trabalho em equipe. Para a gestão de hotelaria hospitalar, os profissionais da área de saúde não podem permanecer atrelados apenas ao conhecimento de seus campos de estudo originais, aplicando práticas rígidas, mas estabelecerem um fluxo de compartilhamento de conhecimento que potencialize as competências grupais.

Como sugestão para pesquisas futuras, este trabalho abre a possibilidade de explorar empiricamente como se dá o processo de construção de competências grupais para a gestão da hotelaria hospitalar, também estudos de análises com relação as instituições de saúde, em identificar e manter seus recursos para a gestão das competências de seus colaboradores para promover um ambiente mais humanizado.



6. REFERÊNCIAS

ANDRADE A. M. F. Hospitalidade: acolhimento, atendimento e ambientação. São Paulo: SENAC, 2011.

ARROW H.; MCGRATH J. E.; BERDAHL J. L. Small groups as complex systems. Formation, coordination, development and adaptation. Sage: Thousand Oaks, 2000.

ASSIS E. E.; OLIVEIRA M. M. O composto de marketing de serviços correlacionado à aplicação do conceito de hotelaria hospitalar. Revista de Gestão em Sistemas da Saúde, v. 1, n. 2, p. 63-85, 2012.

BAQUERO R. V. A. Empoderamento: instrumento de emancipação social? Uma discussão conceitual. Revista Debates, v. 6, n. 1, p. 173, 2012.

CARBONE P. P.; *et al.* Gestão por competências e gestão do conhecimento. Rio de Janeiro: Editora FGV, 2006.

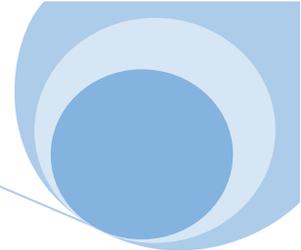
CARRILLO J. C. O. Las oportunidades profesionales del posgrado en ciencias biomedicas. Revista Edu-Fisica, v. 9, n. 20, p. 121-138, 2017.

CEJAS M. La formación por competencias: una visión estratégica em la gestion de personas. Visión Gerencial, n. 1, p. 11-22, 2005

COSTA F. B.; TRINDADE M. A. N.; PEREIRA M. L. T. A inserção do biomédico no programa de saúde da família. Revista Eletrônica Novo Enfoque, v. 11, n. 11, p. 27 – 33, 2010.

OLIVEIRA C.; *et al.* A hotelaria hospitalar como uma nova perspectiva de atuação em organizações de saúde. Revista Turismo: Estudos e Práticas, v. 1, n. 2, 2012.

FEDRIZZI V. L. F. Facetas da hospitalidade. Revista Hospitalidade, v. 6, n. 2, p. 96-114, 2009.



FLEURY A. C. C.; FLEURY M. T. L. Estratégias competitivas e competências essenciais: perspectivas para a internacionalização da indústria no Brasil. *Gestão & Produção*, v. 10, n. 2, p. 129-144, 2003.

FLEURY A. C. C.; FLEURY M. T. L. Estratégias empresariais e formação de competências. 3 ed. Ed. Atlas: São Paulo, 2004.

FONSECA L. R.; *et al.* Empoderamento e competências individuais e grupais: a criação de ambiente organizacional favorável à inovação. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*, v. 14, n. 1, p. 1134-1149, 2017.

GARCIA I. D. F.; *et al.* Humanização na hotelaria hospitalar: Um diferencial no cuidado com o paciente. *Revista Saúde e Desenvolvimento*, v. 10, n. 5, p. 196-207, 2016.

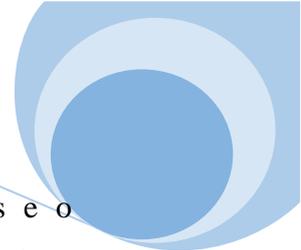
GONÇALVES I. C. O.; FERREIRA L. V. F. Gestão de hotelaria hospitalar: percepções e fundamentos. *Revista Turismo: Estudos e Práticas*, v. 2, n. 2, 2013.

LIMA V. V. *et al.* Processo de construção de perfil de competência de profissionais. São Paulo: Hospital Sírio-Libanês, 2014.

MAGALHÃES P. L. Programa Saúde da Família: uma estratégia em construção. 2011.

MARRAS M. A.; LAPENA S. A. B. Atuação da equipe multidisciplinar no combate às infecções hospitalares. *Journal of the Health Science Institute*, v. 33, n. 1, p. 37-44, 2015.

MASCARENHAS R. G. T.; SOUZA J. T. A qualidade percebida pelo paciente através dos serviços da hotelaria hospitalar: um estudo sobre a hospitalidade na área da saúde. *Turismo e Sociedade*, v. 8, n. 3, 2016.



NASCIMENTO D. D. G.; OLIVEIRA M. A. C. Competências profissionais e o processo de formação na residência multiprofissional em saúde da família. *Saúde e Sociedade*, v. 19, n. 4, 2010.

PERINAZZO J.; *et al.* A atuação do profissional biomédico na atenção primária à saúde: desafios na formação. *Revista Saúde Integrada*, v. 8, n. 15-16, 2015.

REIS H.; RODRIGUES J. *Controlo de gestão ao encontro da eficiência*. Lisboa, Portugal: Escolar editora, 2011.

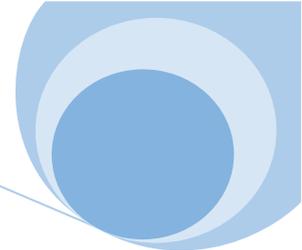
RIBEIRO A. B. A hotelaria hospitalar como um diferencial no setor de saúde. *Revista On-line IPOG Especialize*, v. 1, n. 6, p. 1-14, 2013.

SANTOS FILHO G. M.; MOURÃO L. A relação entre comprometimento organizacional e impacto do treinamento no trabalho. *Revista Psicologia: Organizações e Trabalho*, v. 11, n. 1, p. 66-74, 2011.

SILVA F. M.; RUAS, R. L. Competências coletivas: Considerações acerca de sua formação e desenvolvimento. *REAd-Revista Eletrônica de Administração*, v. 22, n. 1, p. 252-278, 2016.

SILVA I. C. O. G.; FERREIRA L. V. F. Hospitalidade e hotelaria hospitalar: uma análise da qualidade dos serviços através dos instrumentos de medição utilizados pelos principais hospitais da cidade de Natal/RN, Brasil. XI Seminário da Associação Nacional Pesquisa e Pós-Graduação em Turismo, 2014.

WALDOW V. E.; BORGES R. F. Cuidar e humanizar: relações e significados. *Revista Acta Paulista de Enfermagem*, v. 24, n. 3, p. 414-418, 2011.



Capítulo 23

CRESCIMENTO DA ESPÉCIE *Bacillus oleronius* SOBRE DIFERENTES CONDIÇÕES UTILIZANDO COMO CONTAMINANTE O MERCÚRIO ZERO E RESÍDUOS DE LÂMPADAS FLUORESCENTES

Luara Lupepsa¹, Durinézio J De Almeida², Bruno V Almeida⁴, Bruna F Lupepsa¹, Pablo A Barbieri¹, Fábio L Melquiades³

¹Doutorando da Universidade Estadual de Maringá- UEM. Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular

²Doutor em Biologia Comparada pela Universidade Estadual de Maringá –UEM.

³Doutor em Física pela Universidade Estadual de Londrina- UEL.

⁴Graduando em Física pela Universidade Estadual do Centro-Oeste –UNICENTRO.

1. INTRODUÇÃO

O descarte inadequado de lâmpadas contendo mercúrio (Hg) vem preocupando autoridades ambientais, além de ser considerado um resíduo perigoso e de alto risco de contaminação (SANTOS; OLVEIRA & LANA, 2017). O mercúrio é um metal líquido que chama atenção de ambientalistas, devido sua alta toxicidade e com características persistentes no meio ambiente (MARISA & ALMEIDA, 2011). O descarte inadequado desses materiais pode acarretar danos no meio ambiente, já que segundo Martins & Cestari (2016), uma única lâmpada pode contaminar até 15.000 litros de água, devido ao Hg, componente de lâmpadas fluorescentes. O despertar da consciência pública brasileira para as consequências do descarte inadequado do Hg, iniciou-se na década de 70, quando a atividade garimpeira utilizando técnicas ineficazes, provocou a contaminação do maior afluente do rio Amazonas, o rio Tapajós (JUNIOR *et al.*, 2018). Em Minas Gerais no ano de 2015, o acidente com a empresa Samarco mostrou a fragilidade dos ecossistemas frente a poluição humana, uma análise laboratorial após o



desastre encontrou na água do rio partículas de metais pesados, incluindo o mercúrio (FARIA, 2018).

A biorremediação surge como alternativa ecologicamente viável para o tratamento de ambientes contaminados, tais como solos, subterrâneo e água. Consiste em um processo, no qual organismos vivos são utilizados para converter substâncias tóxicas em compostos menos nocivos (GAYLARDE; BELLINASSO & MANFIO, 2005). A modificação ou decomposição de poluentes só é possível devido aos microrganismos, tais como bactérias e fungos, que utilizam substratos orgânicos e inorgânicos como fonte de nutrição, convertendo assim os contaminantes em substâncias inertes (FRANCISCO & QUEIROZ, 2018). Biorremediação é uma tecnologia ecologicamente viável, que usufrui do estímulo microbiano para a conversão ou degradação de toxicantes (MARTINS; VIANA & CARVAJAL, 2014).

O gênero *Bacillus*, acomoda o maior número de espécies de bactérias conhecidas, esse gênero compreende em células em forma de bastão, curvadas ou retas, de variados tamanhos sendo que a maioria apresenta característica aeróbia. Sua morfologia e tamanho variam de acordo com a espécie (OREM, 2014). Alguns genes redundantes envolvendo a resistência a metais pesados no gênero *Bacillus* foram descritas em 2016, por JUNG e colaboradores, as quais podem servir futuramente como plataforma de dados para dispositivos biológicos de biorremediação.

O experimento teve como objetivo geral avaliar a cepa de *Bacillus oleronius*, como biorremediador de mercúrio zero e dos compostos presente nas lâmpadas fluorescentes, utilizando como objetivos específicos a identificação molecular da cepa utilizada, avaliação por fluorescência de raios-X por dispersão em energia (EDXRF), da possível biorremediação de mercúrio e dos demais componentes da lâmpada.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

OBTENÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DA CEPA UTILIZADA

A cepa foi identificada pela Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, utilizando a análise da sequência do gene 16S rRNA, sendo a mesma pertencente a espécie *Bacillus oleronius*. Após a identificação, a cepa foi replicada em meio ágar nutriente contendo

acetato de chumbo na proporção de uma parte por milhão (ppm), mantidos na temperatura de 37°C, sendo armazenada na geladeira até a realização de experimento.

CARACTERIZAÇÃO DOS CONTAMINANTES

Como contaminante analisado utilizou-se o mercúrio vivo da marca K-DENT com o número de registro na ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) de 10165590013. Possui grau de pureza de 99,5%, tomando as devidas precauções de armazenamento e manipulação devido a sua toxicidade. Como composto fluorescente foi analisado lâmpadas compactas da marca OSRAM, obtidos comercialmente na cidade de Guarapuava, Paraná.

PLANEJAMENTO FATORIAL

O experimento teve características fatoriais (Tabela 1) com composto rotacional central, utilizando os compostos tiouréia como fonte de nitrogênio, sulfato de potássio como fonte de potássio e enxofre e fosfato de sódio como fonte de sódio e fósforo, em variáveis concentrações de ppm, simulando abundância e escassez de alguns nutrientes, a glicose, fonte de carbono foi mantida constante em todos os frascos (3 ppm). Foi utilizado mercúrio zero como contaminante em concentração fixa (10 ppm) em todos os frascos, e em triplicata, o experimento foi ainda repetido com as mesmas características usando resíduo do interior de lâmpadas fluorescentes a base de mercúrio. A taxa de metabolização do mercúrio e dos componentes do resíduo de lâmpada pela bactéria, foi avaliado por EDXRF.

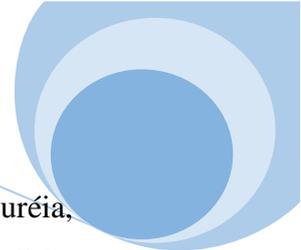


Tabela 1. Planejamento fatorial do experimento, utilizando os compostos de tiouréia, fosfato de sódio, sulfato de potássio e a glicose em concentrações de partes por milhão (ppm). Todos os frascos foram feitos em triplicatas.

	Tiouréia	Fosfatode sódio	Sulfatode Potássio	Glicose
Frasco 1	20	20	0	3
Frasco 2	0	0	20	3
Frasco 3	20	20	20	3
Frasco 4	10	10	10	3
Frasco 5	0	0	0	3
Frasco 6	0	20	0	3
Frasco 7	20	0	0	3

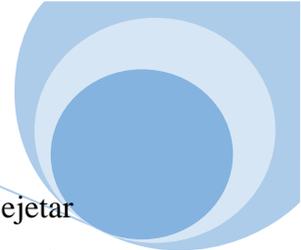
AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA DA CEPA Á TOXICIDADE DO MERCÚRIO

Foram preparados 12 tubos de ensaio, em triplicata, com as variadas concentrações de 0.007g, 0.03g e 0.14g de mercúrio zero e para os compostos da lâmpada foram utilizadas as mesmas concentrações. A estes tubos foram adicionados os sais para tornar possível o crescimento do *B. oleoronius*, e um inóculo de 50 µL da bactéria diluídos a uma concentração de 10^{-4} . Após 24 horas de incubação foi observado a turvação nos tubos e realizou-se o repique de cada tubo para uma placa de *petri* contendo ágar nutriente. O objetivo foi detectar o nível máximo de tolerância da bactéria perante o contato com os contaminantes.

AVALIÇÃO POR EDXRF (FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X POR DISPERSÃO DE ENERGIA) DA POSSÍVEL BIORREMEDIAÇÃO DE MERCÚRIO PELA CEPA DEB. *oleoronius*

O método conhecido por EDXRF é utilizado para análises da composição química elementar de materiais, destaca-se por ser um método não destrutivo e que demanda preparação de amostras simplificada sem a necessidade de abertura química das mesmas. (APPOLONI *et al.*, 2007).

A técnica quali-quantitativa é baseada na medida da intensidade dos raios-x que são emitidos por um tubo de raios x com energia suficiente para excitar os elétrons.



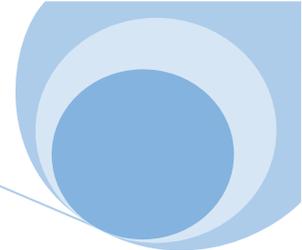
Quando a amostra é excitada por uma fonte de raios-x externa, esta tende a ejetar elétrons das camadas mais próximas do átomo, tendo como consequência o processo do salto quântico realizado pelos elétrons das camadas mais afastadas a fim de preencher a vacância gerada. Cada transição dos elétrons constitui em uma perda de energia que é emitida para o detector na forma de fóton de raios-x característico (FILHO, 1999). A concentração de um elemento na amostra está relacionada com a área do pico no espectro registrado.

O detector utilizado foi de silício Si-PIN X123 (Amptek Inc.), com janelas de berílio e com um colimador de Ag de 3 mm de diâmetro. O mini tubo de raios X (Moxtek Inc., alvo de Ag, 4 W, com filtro de Ag de 50 μm) foi operado com uma tensão de 28 kV e uma corrente de 10 μA , as medidas foram realizadas em um suporte de acrílico com geometria 45° x 45°. O tempo de medida foi de 200 s.

Para a preparação das membranas visando encaminhamento para o equipamento de EDXRF, utilizou-se o processo de filtração em membrana, onde após a interação das bactérias com os elementos analisados, o material foi filtrado em membranas de éster de celulose de 45 μm de poro e 47 mm de diâmetro, quadriculada, da marca Merck S/A, codificando o material suspenso na membrana como MPS (Material Particulado de Suspensão). Ao líquido recolhido após a filtração, foi ajustado o pH para 4 e adicionado o agente quelante APDC (Ditiocarbamato de Pirrolidina de Amônia) o qual reage com íons metálicos, sendo capaz de formar complexos estáveis e insolúveis, esse material foi novamente filtrado em membranas de acetato de celulose sendo codificados como APDC (MELQUIADES, *et al.*, 2007).

A determinação quantitativa de Hg ($Z=80$) foi realizada pelo ajuste da curva de sensibilidade. Foram utilizados padrões MicroMatter de ouro ($Z=79$), chumbo ($Z=82$), e bismuto ($Z=83$), elementos estes que possuem um número atômico próximo ao do contaminante analisado, devido ao fato da ausência de um padrão de mercúrio.

Após determinação da sensibilidade do Hg, realizou-se a leitura das amostras padrão de branco MPS e branco APDC, seguindo por fim com as 56 membranas amostrais. Os gráficos dos respectivos brancos, espectros padrões e amostras foram sobrepostos para auxiliar na conclusão dos resultados. A averiguação da área referente a cada um dos picos gerados foi feita no software WINQXAS.



3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para simular diferentes condições nutricionais utilizou-se compostos orgânicos, íons e mercúrio, acrescidos aos frascos de fermentação, com o intuito de induzir o microrganismo a utilizar diferentes rotas metabólicas, afim de ativar a expressão gênica de fatores que representassem mecanismos de defesa a toxicidade do mercúrio. Os resultados demonstraram que a cepa utilizada de *Bacillus oleoronius* não apresenta indícios de redução de divisão binária na concentração dos contaminantes testada neste estudo, pois embora os contaminantes estivessem presentes em todos os experimentos não houve inibição do crescimento da espécie em nenhum destes, apesar do mercúrio ser considerado tóxico tanto para as células eucarióticas quanto para as procarióticas.

O mecanismo supostamente envolvido na tolerância da bactéria ao Hg pode estar relacionado a três processos. O primeiro relacionado a estrutura e funcionamento da membrana celular, onde a partícula tóxica é translocada para fora da célula. O segundo processo refere-se à alteração metabólica, onde o microrganismo pode redirecionar a partícula para uma região de menor síntese, interferindo no seu metabolismo, mas não o inibindo em suas atividades vitais. E a terceira hipótese relata a remoção de partículas de mercúrio e dos compostos fluorescentes, utilizando o critério de exclusão, onde a absorção e o transporte são dificultados por um mecanismo interno de tolerância da bactéria (JUNIOR & QUEIROZ, 2012).

Outra hipótese levantada é que os microrganismos gram-negativos como é o caso da *Bacillus oleoronius* apresentam mecanismos de resistência relacionados ao operon mer. Bactérias que portam esse sistema são capazes de reduzir enzimaticamente o mercúrio para a forma mais volátil (GRAZZIOTIN, 2010), esse processo é denominado volatilização, que através desse operon mer se ligam a espécies orgânicas de Hg e ao Hg elementar, transportando-os e em seguida desintoxicando o procarioto (WARWICK *et al.*, 2019).

O gênero *Bacillus* já foi analisado anteriormente por Narita *et al.*, (2003), onde verificou a capacidade de sobrevivência de 30 cepas diferentes do gênero, selecionando bactérias gram positivas, coletadas todas na Baía de Minamata, (Japão), a qual em foi alvo de uma alta contaminação de metilmercúrio e mercúrio inorgânico durante a década de 1950 e 1960. Os resultados demonstraram uma resistência a metais pesados, o que corrobora com nossos achados, responsabilizando a difusão horizontal de genes como papel fundamental na adaptação dessas bactérias. Sinha; Pant & Khare(2012),



analisou outra espécie do Gênero, o *Bacillus cereus* quanto ao potencial para remediação de fontes de mercúrio, o qual concluiu que a cepa é capaz de remediar cerca de $104.1 \text{ mg}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$ com uma concentração de biomassa de 0.02 g/l^{-1} em ambiente aquoso através do processo de bioissorção.

O mesmo processo ocorre quando comparamos as fontes de nitrogênio utilizadas e as fontes de sódio e fósforo. O fósforo desempenha um papel essencial sob os seres vivos, o elemento compõe os ácidos nucleicos e fosfolipídios, além de desempenhar funções elementares nas vias metabólicas (CARNEIRO *et al.*, 2004). A rota metabólica mais utilizada pela bactéria é a de decomposição do nitrogênio, enfatizando mais uma vez sua maior necessidade em sintetizar proteínas, ácidos nucleicos e aminoácidos do que incorporar substâncias externas através do transporte ativo.

Podemos inferir que o fosfato de sódio não teve uma relevância grande no crescimento bacteriano, esta observação era esperada, pois ambos os elementos (fósforo e potássio) são requeridos em baixas concentrações pelas bactérias, o que explica nossos resultados. É importante salientar que embora tenhamos claramente uma tendência a um aumento no número de bactérias quando os elementos se apresentaram em maior concentração (Figura 1), ao realizar a ANOVA dos dados estes não apresentaram relevância significativa ($p= 0,5$).

Nos casos das lâmpadas a base de mercúrio, devido a uma maior disponibilidade de elementos presente nas lâmpadas, a bactéria, para poder se replicar, alterou sua rota metabólica para se adaptar o meio contendo uma maior diversidade de elementos. Como a composição da lâmpada é a base de fosfato de cálcio, contendo ainda Al, Sb, Ba, Fe, W, Mn e Na^4 houve uma maior disponibilidade de nutrientes para seu desenvolvimento, em contrapartida houve um acréscimo de contaminantes, não se restringindo apenas ao mercúrio (BRANDÃO *et al.*, 2011). O experimento demonstrou uma tendência a menor crescimento em frascos com maior concentração de tiouréia, tal processo ocorreu devido ao direcionamento metabólico, já que se utilizou de outras fontes de nitrogênio para manter suas atividades vitais.

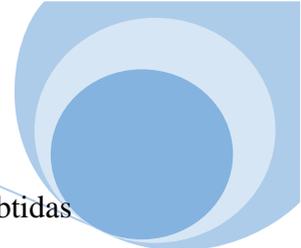
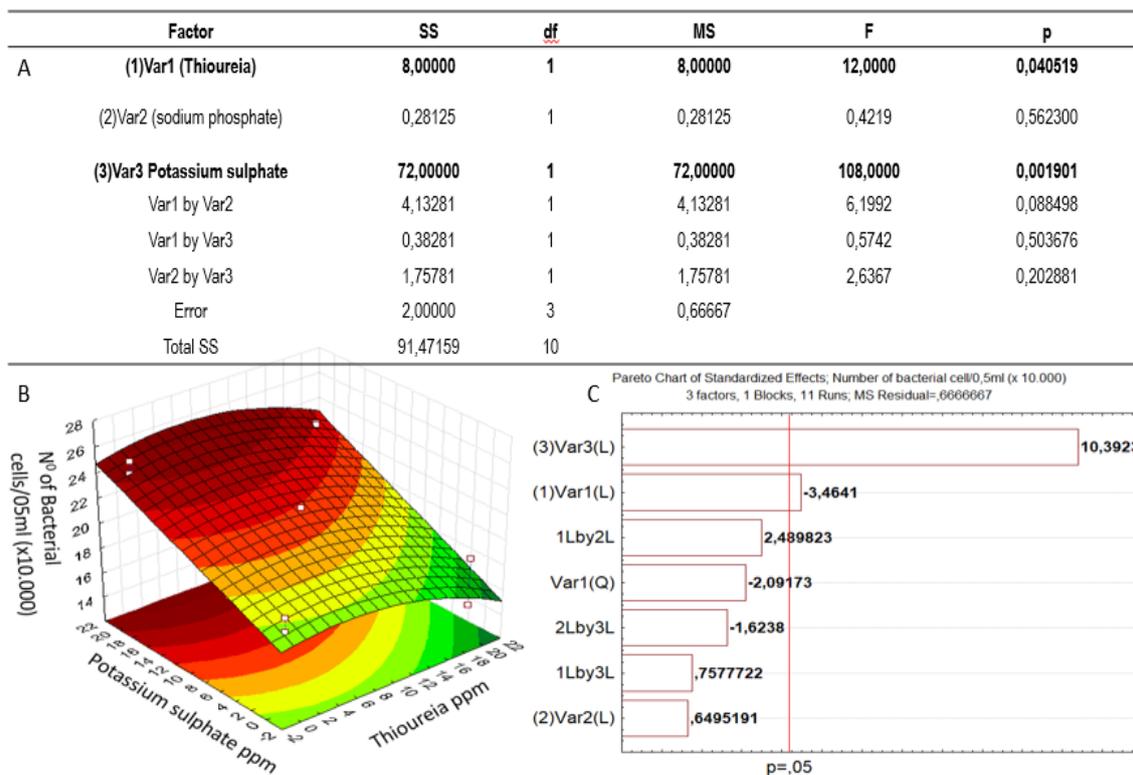


Figura 3. ANOVA (A); Superfície de resposta (B) e Distribuição de Pareto (C) Obtidas dos dados do planejamento fatorial, para as variáveis Tiúreia, fosfato de sódio e Sulfato de potássio individuais e pareadas para a contagem de células de *Bacillus oleoronius* após 24 horas de fermentação em meio contendo 10 ppm de Hg.



As análises de EDXRF das membranas indicam claramente a presença de Hg nas amostras, quando comparado com as membranas de branco (solução sem Hg) (Figura 2). A Figura 3 evidencia que o mercúrio está presente o suficiente para a detecção e quantificação do metal através de análises estatísticas e físicas, estabelecendo o limite mínimo de detecção de 0,0010 ppm e o limite máximo de detecção e 0,034 ppm para a quantificação do Hg. A concentração mínima utilizada no planejamento fatorial no que se refere ao Hg elementar foi de 10 ppm, já nas lâmpadas fluorescentes não há como saber com clareza a quantidade de Hg, levando em consideração que sua composição é uma junção de diversos elementos.



Figura 4. Espectro de EDXRF de uma das membranas amostrais contendo Hg líquido (roxo) sobreposto a uma membrana de banco (verde).

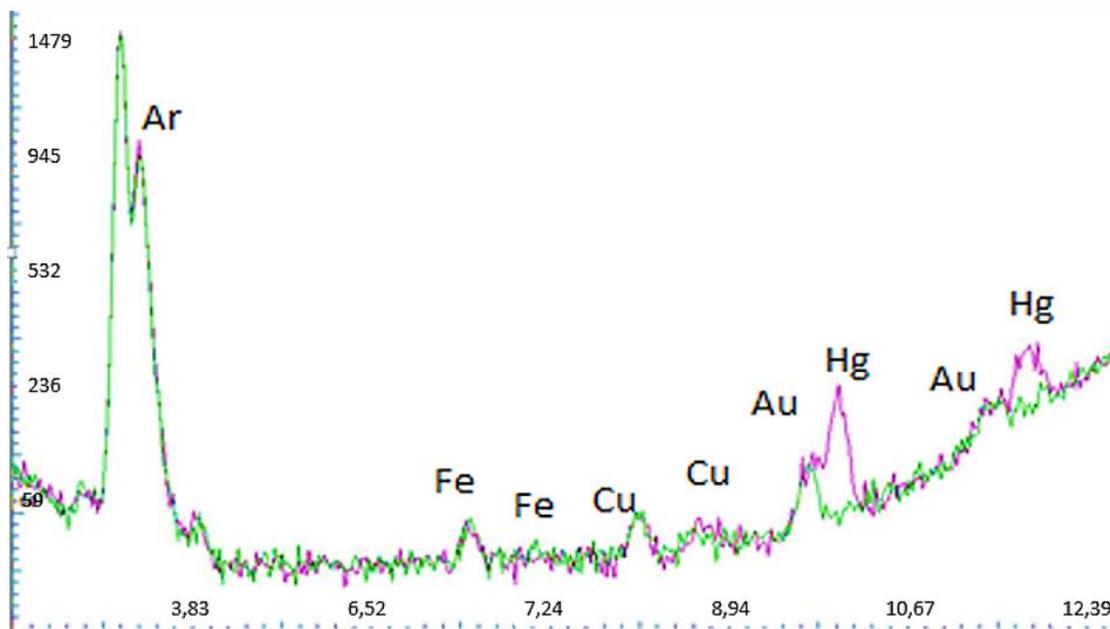
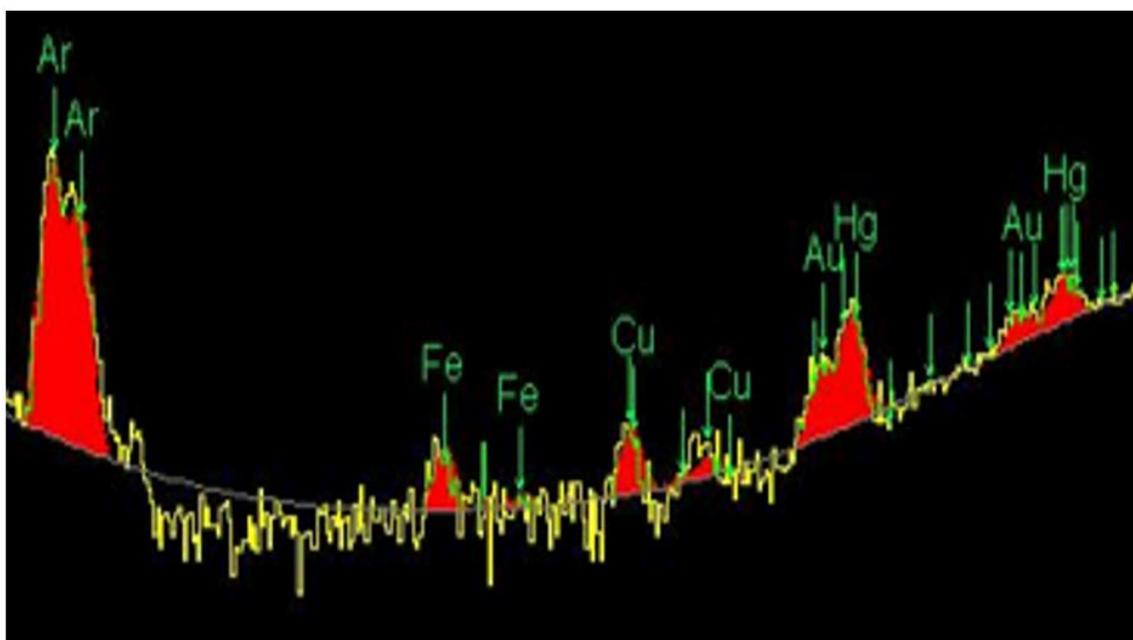


Figura 5. Espectros referentes à área do Hg. As regiões destacadas em vermelho indicam a área de cada elemento, a qual é proporcional a sua concentração.



O primeiro pico identificado nos espectros é o do argônio (Ar), explicado assim pelo fato de seu estado físico ser um gás, portando estava presente no ambiente, aparecendo nas medidas (DANTAS & RAQUEL, 1992), porém não interferindo nas



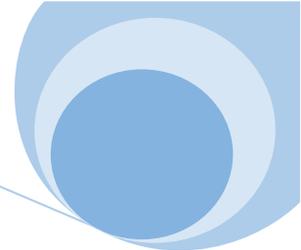
análises devido a distância dos espectros quando comparados com os compostos analisados. No que se refere aos acontecimentos com a prata (Ag), para efetuar a análise das amostras, foi utilizado um colimador de prata que tem por objetivo de reduzir a radiação de fundo e contribuir para um menor limite de detecção (SILVA *et al.*, 2006), portanto os picos identificados como de prata não são considerados presente nas membranas e sim parte do equipamento. Os elementos identificados como sendo o ferro (Fe) e cobre (Cu), estão presente naturalmente no recurso hídrico utilizado, e o ouro (Au) é uma contaminação interna no detector. Entretanto observamos dois picos referentes ao mercúrio (10,04 e 11,90 KeV), o pico que possui a maior energia é referente a linha $LK\alpha$, quando o elétron sai das camadas mais internas, e o pico de menor energia é a reposição deste elétron realizado pelas camadas subsequentes ($K\beta$), estes valores estão disponíveis em tabelas de energia as quais são únicas para cada transição (FILHO, 1999). Graças a intensidade ser diretamente proporcional a sensibilidade, podemos calcular o resultado da concentração da amostra acima, sendo a este referido o valor de 0,284 ppm de Hg, indicando que não houve redução significativa quando comparado com o planejamento fatorial.

Nas membranas amostrais das lâmpadas fluorescentes, não foi detectado quantidades de Hg acima do limite de detecção (0,0010 ppm), devido ao fato dos objetos conterem baixas quantidades do metal (3-5 mg de Hg/lâmpada) (SANTOS; OLVEIRA & LANA, 2017), sendo assim não houve a geração de espectros quando utilizamos as lâmpadas fluorescentes como contaminantes. Podemos relacionar a ausência dos espectros em alguns casos com a não dissolução do metal, devido a suas características hidrofóbica, ficando assim indisponível para a bactéria, consideramos também a relação com a não fixação do Hg nas membranas de celulose, Raposo; Windmüller & Junior (2003), afirma que espécies de Hg^{+1} e Hg^{+2} formam compostos mais solúveis que o Hg^0 , sendo assim mais facilmente oxidada e metilada, resultando em um maior impacto ambiental.

A resistência do efeito da toxicidade do mercúrio líquido e dos compostos da lâmpada fluorescente sob o *Bacillus oleoronus* foi investigado através da adição do metal em concentrações crescentes aos meios nutritivos, sendo avaliado qualitativamente pelo crescimento da cepa em ágar nutriente. Como resultado obtivemos um crescimento, em todas as concentrações utilizadas, indicando que o isolado da bactéria é tolerante aos compostos testados, os quais não influenciam o seu desenvolvimento. Abu-Dieyeh; Alduroob & Al-Ghouti, (2019), verificaram a eficiência

na remoção do mercúrio de lâmpadas fluorescentes utilizando 10 cepas resistentes ao mercúrio. Duas espécies bacterianas se destacaram *Bacillus marisflavi* (96.7%) e *Acinetobacter sp.* (98.9%), sendo promissoras para o processo de biorremediação.

Diante do aumento do número de lâmpadas no mercado, faz-se necessário a criação de uma conscientização popular, visto que os descartes inadequados desses materiais podem acarretar sérios danos para a saúde e meio ambiente. A pesquisa por microrganismos com capacidade biorremediadora visa reduzir a biodisponibilidade desses contaminantes ambientais, além de ser uma alternativa ecologicamente viável. A partir dos dados coletados através das análises de tolerância, EDXRF, ANOVA e das superfícies de resposta, podemos afirmar que a bactéria *Bacillus oleronius* possui capacidade de crescimento e adaptação á meios contendo Hg líquido e os componentes internos da lâmpada a base de Hg, entretanto não há indícios que ela possua mecanismos para biorremediar ou reduzir os componentes.



4. REFERÊNCIAS

ABU-DIEYEH M. H.; ALDUROOBI H. M.; AL-GHOUTI M. A. Potential of mercury-tolerant bacteria for bio-uptake of mercury leached from discarded fluorescent lamps. *Journal of environmental management*, v. 237, p. 217-227, 2019.

APPOLONI C. R.; *et al.* Aplicação de um equipamento portátil de EDXRF no acompanhamento dos trabalhos de restauro de pinturas murais na igreja da paróquia imaculada conceição. *Revista Brasileira de Arqueometria. Restauração e Conservação*, v.1, n. 4, p.161-164, 2007.

BRANDÃO A.C.; *et al.* Educação ambiental: O caso das lâmpadas usadas. *Artigo Técnico*, Instituto de Química UFRJ, p. 17-23. 2011.

CARNEIRO R.G.; *et al.*, Indicadores biológicos associados ao ciclo do fósforo em solos de cerrado sob plantio direto e plantio convencional. *Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.39, n. 7, p. 661-669, 2004.

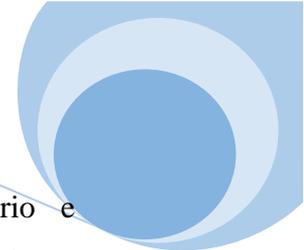
DANTAS A.; RAQUEL R. Triquíase: fotocoagulação com laser de argônio. *Revista Brasileira de Oftalmologia*. v. 51, n. 4, p. 9-12, 1992.

FARIA M. P. Impactos do incidente de Mariana. *Revista Brasileira de Medicina do Trabalho*. Resumos expandidos de apresentação de convidados. v.16, Supp. 11, p. 1-44, 2018. DOI:10.5327/Z16794435201816S1016.

FILHO V. N. Técnicas analíticas nucleares de fluorescência de raios-x por dispersão de energia (ED-XRF) e por reflexão total (TXRF). Departamento de Ciências Exatas/ESALQ. 1999.

FRANCISCO W. C.; QUEIROZ T. M. Biorremediação. *Nucleus*, v.15, n.1, p. 249-256, 2018.

GAYLARDE C. C.; BELLINASSO M. L.; MANFIO G. P. Biorremediação. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, v. 34, p. 36-43, 2005



GRAZZIOTIN P. G. Isolamento de microrganismos resistentes a mercúrio e caracterização da mercúrio redutase de *Pseudomonas sp.* Dissertação (microbiologia agrícola e do meio ambiente) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul Porto Alegre, 2010.

JUNG J.; *et al.* Complete genome sequence of *Bacillus oceanisediminis* 2691, a reservoir of heavy-metal resistance genes, *Marine Genomics*, v. 30, p. 73-77, 2016.

JUNIOR J. M. F. C.; *et al.* Levels of mercury found in hair and fish consumption of riverine communities in the Tapajós region of the Brazilian Amazon. *Ciência Saúde Coletiva*, 2018.

JUNIOR P.; QUEIROZ J. P. Bactérias endofíticas em cana-de-açúcar: crescimento em ambiente com altas concentrações de Cd, Cr, Ni e Pb “*in situ*” e “*in vitro*”. Seção técnica de Biblioteca- CENA/USP. Piracicaba, 2012.

MARISA E.; ALMEIDA M. Efeito do mercúrio em comunidades bacterianas associadas a plantas. 2011. Dissertação – Universidade de Aveiro. Departamento de Química. São Paulo. 2011.

MARTINS C. H.; CESTARI W. Estudo de caso de logística reversa de lâmpadas fluorescentes pós-consumo: Sistema de armazenagem em uma instituição de ensino. *Revista Diálogos: extensão: metodologias e inclusão*, Brasília, v.20, n.1, nov, 2016

MARTINS A. S.; VIANA M. O.; CARVAJAL E. Bioprospeção de bactérias com potencial tecnológico para biorremediação de ecossistemas impactados por mercúrio e cromo. *Geochimica Brasiliensis*, v. 28, n. 1, p. 36-42, 2014.

MELQUIADES F. L.; PARREIRA P. S.; YABE M. J. S.; CORAZZA M. Z.; FUNFAS R.; APPOLONI C. R. Factorial design for Fe, Cu, Zn, Se and Pb preconcentration optimization with APDC and analysis with a portable X-ray fluorescence system. *Talanta*, v. 73, p. 121-126, 2007.



NARITA M.; *et al.* Diversity of mercury resistance determinants among *Bacillus strains* isolated from sediment of Minamata Bay. *FEMS Microbiology Letters*, v. 223, n. 1, p. 73-82, 2003.

OREM J. C. Filogenia e perfil plasmidial de bactérias aeróbias formadoras de endósporos isoladas de solo. Dissertação de mestrado do Programa de pós graduação de biologia microbiana da Universidade de Brasília. 2014.

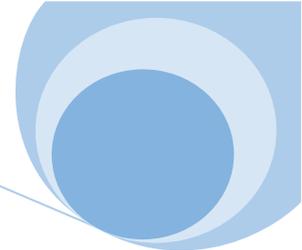
RAPOSO C.; WINDMÖLLER C. C.; JUNIOR W. A. D. Mercury speciation in fluorescent lamps by thermal release analysis. *Waste Management*, v. 23, n. 10, p. 879-886, 2003.

SANTOS K. N. S.; OLVEIRA J. A. P.; LANA G. L. Handling and disposal of fluorescent lamps. XVII Safety, Health and Environment World Congress, 2017.

SILVA I. J. O.; *et al.* Estudo do efeito do uso de colimador na sonda gama utilizada em cirurgia radioguiada. *Revista Radiologia Brasileira*, v. 39, n. 6, p. 429-434. 2006.

SINHA A.; PANT K. K.; KHARE S. K. Studies on mercury bioremediation by alginate immobilized mercury tolerant *Bacillus cereus* cells. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 71, p. 1-8, 2012.

WARWICK D.; *et al.* Mercury vapor volatilization from particulate generated from dental amalgam removal with a high-speed dental drill – a significant source of exposure. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, v. 14, n. 1, p. 22, 2019.



Capítulo 24

PREVALÊNCIA DA DOENÇA DE CHAGAS AGUDA NO PARÁ ENTRE O PERÍODO DE 2007 – 2018

Larissa do SS Bastos¹, Lucas A Ferreira²

¹Acadêmica de Biomedicina, Universidade da Amazônia, Ananindeua/PA.

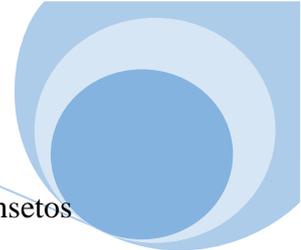
²Biomédico, Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários pela Universidade Federal do Pará, Belém/PA.

1. INTRODUÇÃO

Descoberta em 1909 por Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas, a doença de Chagas ou tripanossomose americana é causada pelo protozoário parasito *Trypanosoma cruzi*, sendo definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS), como uma das dezessete doenças tropicais negligenciadas, atingindo cerca de 10 milhões de indivíduos infectados nas Américas. Além disso, está entre as mais importantes infecções parasitárias, principalmente pelo seu grande impacto socioeconômico significativamente maior quando comparada a todas as outras infecções causadas por parasitos (FERREIRA; BRANQUINHO & LEITE, 2014).

É uma patologia comum em países em desenvolvimento que carecem de infraestrutura e de um sistema de saúde e vigilância sanitária eficaz, costuma ser transmitida principalmente por meio das fezes de triatomíneos infectados chamados popularmente de “barbeiros” ou “chupões”. Após a infecção, o indivíduo afetado pode apresentar, entre outros sinais de inoculação, o edema das pálpebras se a mucosa da conjuntiva for a porta de entrada dos tripanossomas denominado “Sinal de Romã” (WESTPHALEN; BISUGO & ARAÚJO, 2012).

Outra forma de transmissão se faz por meio da ingestão de alimentos contaminados como por exemplo o açaí, onde a contaminação pelo *T. cruzi* pode ocorrer quando os insetos vetores (triatomíneos) depositam seus dejetos infectados na



superfície de alimentos/ingredientes alimentícios ou, eventualmente, quando os insetos são triturados durante o processamento das frutas (PASSOS *et al.*, 2012).

O açaí é fruto do açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) uma espécie de palmeira (Fruteira) muito comum na região norte do Brasil de onde se extrai o fruto (açaí) que pode ser processado para fornecer a polpa que pode ser utilizada como base em uma grande variedade de bebidas e produtos alimentares, que por sua vez pode ser consumido em todo o Brasil (BARCELOS *et al.*, 2017).

A polpa do açaí apresenta um grande valor energético por conter alto teor de lipídeos como Ômega 6 e 9, bem como carboidratos, fibras, vitamina E, proteínas, minerais e grande quantidade de antioxidantes. Sendo ainda benéfico como anti-inflamatório, na dislipidemia, no diabetes 2, no câncer e envelhecimento (SANTOS, 2016).

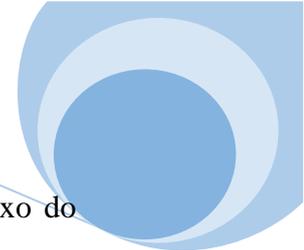
Na região Norte, a prevalência da doença costuma ser maior devido a contaminação do açaí durante seu processamento, ainda mais por ser para muitos a única refeição do dia, então o seu consumo e a comercialização são imediatamente realizados após o preparo sem qualquer forma de tratamento térmico e muitas vezes sem a higiene necessária. Assim o presente estudo visou identificar a prevalência dos casos de Doença de Chagas Aguda nas diversas regiões do Brasil, com ênfase na região Norte e o papel do açaí na sua transmissão.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo, quantitativo, das notificações de casos de Doença de Chagas Aguda confirmada de acordo com ano e a região federativa. Os dados foram obtidos do Sistema de Informação de Doenças e Agravos de Notificação (SINAN) no período de 2007-2018.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao total, foram notificados 2.704 casos de Doença de Chagas entre 2007 – 2018, sendo a região Norte com o maior registro (2.568), seguida do Nordeste (97), Sudeste (8), Centro-Oeste (30) e Sul (4). O Estado do Pará liderou em todos os anos com o maior número de casos confirmados, sendo 321 indivíduos infectados em 2016.



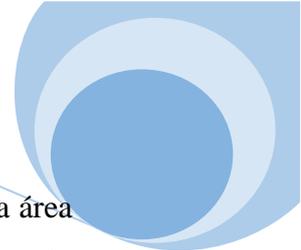
As altas taxas presentes no Estado do Pará podem ser vistas como reflexo do frequente consumo de açaí, mais especificamente em regiões ribeirinhas, onde o acesso a saúde e educação é precário, como apontado pelo baixo índice de desenvolvimento humano (IDH) apesar de que no Diário Oficial do Estado (DOE, 2012) consta o Decreto nº 326, de 20/01/2012, que estabeleceu regras para cadastramento dos batedores artesanais de açaí, além de nortear todo o processo a fim de minimizar os riscos aos consumidores (BRASIL, 2012). Carvalho *et al.*, (2018) lembra ainda que o estado do Pará está entre os maiores produtores do fruto representando cerca de 78% da produção média.

O armazenamento incorreto do fruto pelos produtores e consumidores é um ponto levantado por Nonato *et al.*, (2014) pois, muitas pessoas não teriam o cuidado ao guardar os frutos e acabavam por expô-lo em lugares próximos a contaminantes, inclusive onde poderia haver a presença do barbeiro.

O estudo *in vitro* e *in vivo* realizado por Passos *et al.*, (2012) sobre a sobrevivência e infectividade do *Trypanosomacruzi* na polpa de açaí, demonstrou que mesmo elevando a temperatura a 121°C por 15 minutos (tempo médio para que a polpa perca metade das suas propriedades) não alterou a sobrevivência do parasito por 48h posteriores, enquanto que ao ser mantida em 4°C 100,0% das tripomastigotas ainda estavam ativas após 144 horas de exposição.

Os mesmos autores identificaram a diminuição da quantidade dos tripomastigotas após a polpa *in natura* ter sido congelada a -20°C, sendo devido a impossibilidade da observação da totalidade do eluato ou por todo o processo de congelamento que teria sido capaz de matar ou inativar grande quantidade dos tripomastigotas, porém não sua totalidade, visto que ainda causaram a Doença de Chagas Aguda (DCA) ao ser testado *in vivo* em camundongos *scid* que são deficientes em linfócitos funcionais T e B e, por esse motivo, não resistem ao processo infeccioso do parasito, ainda que em baixa concentração.

Nóbrega *et al.*, (2009) lembra ainda que o açaí tem sido o principal veículo para surtos pequenos e localizados da DCA, tal qual relatou em seu estudo no município de Barcarena/PA aonde depois de excluir as transmissões por outras vias uma refeição compartilhada foi o único evento que ligava pacientes a casos, e estudos de coorte e caso-controle demonstraram associação entre o consumo de açaí nessa refeição e a o desenvolvimento da infecção, indicando assim um surto de doença transmitida por via oral a partir do açaí contaminado.



Souza-Lima *et al.*, (2013) identificaram 17 indivíduos em Monte Alegre na área rural de Santa Izabel do Rio Negro (SIRN), Brasil que contraíram a DCA depois de consumirem produtos de açaí, sendo este o primeiro relato de um surto com essas características na região do Rio Negro. Apesar de que no ponto de vista epidemiológico, a Doença de Chagas ocorre nesta região há vários anos. E por esse motivo é considerada uma doença ocupacional relacionada à extração da piaçaba, durante a qual os indivíduos entram em contato com *Rhodnius brethesi*, um vetor conhecido da doença nessa área, principalmente em Barcelos, município vizinho ao SIRN.

Outro evento foi relatado por Santana *et al.*, (2019) que identificou 10 familiares que apresentaram sinais e sintomas de DCA após ingerirem suco de açaí produzido por revendedores locais nos arredores de Lábrea/AM, sendo este o único fato comum que interligavam os indivíduos antes do quadro febril, posteriormente todos os pacientes foram diagnosticados com *Trypanosoma cruzi* por estiraço sanguíneo ou por xenodiagnóstico.

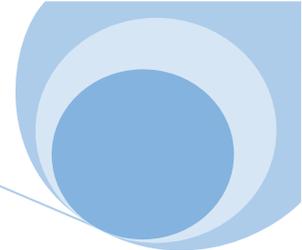
Júnior *et al.*, (2017) enfatiza ainda a importância dos fatores ambientais como fundamentais para a incidência da DCA, como analisado em seu estudo no município de Barcarena/PA onde o desmatamento e o baixo índice pluviométrico se mostraram grandes influenciadores na ocorrência da patologia e a contaminação oral a mais provável causa relacionada aos casos notificados.

Para Oliveira *et al.*, (2017) é essencial as ações educativas que ajudam a orientar e esclarecer a população sobre a transmissão da Doença de Chagas através de suas diversas formas, enquanto Carvalho *et al.*, (2018) lembra que é de grande importância não só o controle dos vetores através de inseticidas, como também a prevenção por meio de ações impactantes que minimizem as infestações e os efeitos ambientais, mediante processo de melhorias tanto habitacionais como de higiene.

Mattos *et al.*, (2020) ressalta a necessidade de técnicas para análise sanitária de polpa de açaí e com base no seu estudo experimental sugere a caracterização morfológica de fragmentos de triatomíneos em produtos alimentícios. Além disso, os resultados da PCR indicaram um bom método para complementação diagnóstica. Essas metodologias para a identificação específica de fragmentos de triatomíneos permitiriam que analistas de alimentos identifiquem uma possível contaminação por vetores de insetos em amostras de alimentos.

Em regiões com baixo IDH o fruto, em grande parte dos casos, é tido como forma de alimentação principal das famílias, já que é de fácil plantio, colheita e manejo.

Porém, se houver condições inadequadas de moradia, está pode permitir que o barbeiro entre nas residências e continuar o ciclo da doença. Dessa forma, o intenso consumo de açai e as precárias condições de moradia em algumas localidades são os fatores que mais contribuem para o aumento destes números. Logo, é necessária a intensificação de políticas de controle e rastreamento dos focos do parasito nestas regiões de risco.



4. REFERÊNCIAS

BARCELOS I. B.; *et al.* Qualidade microbiológica de polpas de açaí comercializadas no município de Ji-Paraná, Rondônia. 2017. Programa de Pós-Graduação stricto sensu em Biodiversidade e Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas – RO, Brasil. 2017.

BRASIL. Governo do Estado do Pará. Decreto nº 326, de 20 de janeiro 2012. Estabelece regras para cadastramento dos batedores artesanais de açaí e bacaba; padrões para instalações, materiais, máquinas e equipamentos; condições higiênico-sanitárias e boas práticas de processamento, e atividades de inspeção e fiscalização. Diário Oficial do Estado do Pará; 24 jan. 2012.

CARVALHO G. L. B.; *et al.* Doença e Chagas: Sua transmissão através do consumo de açaí. Acta de Ciências e Saúde. v. 1, n. 1, 2018.

FERREIRA R. T. B.; BRANQUINHO M. R.; LEITE P. C. Transmissão oral da doença de Chagas pelo consumo de açaí: um desafio para a Vigilância Sanitária. Vigilância Sanitária em Debate. v. 2, n. 4, p. 4-11, 2014.

JÚNIOR A. S. S.; *et al.* Análise espaço-temporal da doença de Chagas e seus fatores de risco ambientais e demográficos no município de Barcarena, Pará, Brasil. Revista Brasileira de Epidemiologia, v. 20, n. 4, p. 742-755, 2017.

MATTOS E. C.; *et al.* Fragment detection of Coleopteran and Triatomine insects in experimentally contaminated acai pulp and sugarcane juice. Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine, v. 53, 2020.

NÓBREGA A. A.; *et al.* Oral Transmission of Chagas Disease by consumption of açaí palm fruit, Brazil. Emerging Infectious Diseases, v. 15, n. 4, p. 653-655, 2009.

NONATO S. G. N.; *et al.* Avaliação das condições higiênico-sanitárias de indústrias processadoras de açaí de Imperatriz-MA. RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade. v. 7, n. 3, p. 114-123, 2014.

OLIVEIRA F. L. B.; *et al.* Extensão universitária e as ações educativas para o controle dos vetores da doença de Chagas em Santa Cruz - RN. Rev. Ciênc. Ext. v.13, n. 1, p. 128-136, 2017.

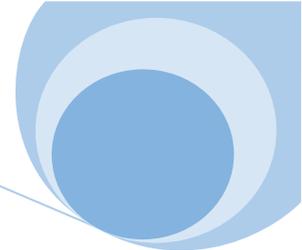
PASSOS L. A. C.; *et al.* Sobrevivência e infectividade do *Trypanosomacruzi* na polpa de açaí: estudo in vitro e in vivo. Epidemiologia e Serviços de Saúde, Brasília, v. 21, n. 2, p. 223-232, 2012.

SANTANA R. A. G.; *et al.* Oral Transmission of *Trypanosoma cruzi*, Brazilian Amazon Emerging Infectious Diseases, v. 25, n. 1, p. 132-135, 2019.

SANTOS V. S. O açaí e a Bioquímica: unidade de ensino potencialmente significativa utilizando uma fruta regional para abordar conceitos de Bioquímica na Educação de Jovens e Adultos- EJA. 2016. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências Exatas e da Terra. Programa de Pós-Graduação em ensino de Ciências Naturais e Matemática. Natal – RN, 136 f. 2016.

SOUZA-LIMA R. C.; *et al.* Outbreak of acute Chagas disease associated with oral transmission in the Rio Negro region, Brazilian Amazon. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. v. 46, n. 4, p. 510-514, 2013.

WESTPHALEN E. V. N; BISUGO M. C.; ARAÚJO M. F. L. Aspectos epidemiológicos e históricos do controle da doença de Chagas no Continente Americano. BEPA.v.9, n. 105, p.18-35, 2012.



Capítulo 25

CARACTERIZAÇÃO DOS DESCARTES DE HEMOCOMPONENTES NO HEMOCENTRO DE RIO BRANCO-ACRE

Gabriela D Menezes¹, Amanda MS Do Nascimento¹, Gilberto B Dos S Júnior¹, Lília RF Da Silva², Marlice A De Lima³, Madelleyne De SC Soares²

¹Discente em Biomedicina pelo Centro Universitário Uninorte. Rio Branco/AC.

²Docente do Centro Universitário Uninorte - Uninorte. Bloco da Saúde, Rio Branco/AC.

³Biomédica do Setor de Sorologia no Hemocentro de Rio Branco/AC.

1. INTRODUÇÃO

Doar sangue com o passar do tempo e com medidas tomadas pelo Ministério da Saúde deixou de ser um ato de ambição onde muitos doavam pela remuneração e passou a ser um ato de solidariedade, onde uma média de 450 ml de sangue pode ajudar até três pessoas sejam elas: pacientes com câncer, linfomas, mielomas, leucemia, pessoas acidentadas ou que passaram por grandes cirurgias ocasionando grande perda de sangue, entre outros casos; pois seus hemocomponentes são fracionados de diferentes formas, ou seja, com menos de 10% sangue do total de uma pessoa, várias vidas podem ser salvas (BRASIL, 2001).

Por isso todos os anos os Hemocentros do país realizam várias campanhas de doação com o intuito de passar essa mensagem e de alguma forma tentar fazer com que a doação se torne um hábito para a população. Apesar de todo o empenho das campanhas, os hemocentros ainda apresentam dificuldades em manter o estoque de sangue ideal para atender as necessidades específicas e emergenciais (BORGES *et al.*, 2010).

Apesar da importância da doação, uma transfusão sanguínea não pode ser feita a qualquer custo, pois ela pode chegar a ser imprópria caso sejam coletadas amostras de sangue de um indivíduo inapto, identificação inadequada das amostras, o sangue transfundido seja incompatível com o receptor, etc. Tecnicamente receber sangue de



outra pessoa tem basicamente os mesmos riscos que receber um órgão transplantado, pois o nosso sistema imunológico tende a rejeitar tecidos que lhe são estranhos.

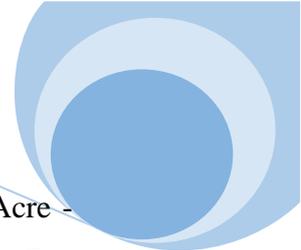
Atualmente para que o material sanguíneo doado possa ser utilizado por um receptor, devem ser previamente realizados exames de qualificação no sangue do doador, responsáveis por garantir a segurança transfusional. Essa segurança abrange um composto imenso de requisitos importantes para minimização de riscos para os doadores e receptores de sangue. Por isso, é necessário cumprir com competência o ciclo hemoterápico desde captação e seleção de pessoas, triagem sorológica, transfusão e análise pós transfusional (BRASIL, 2014).

O descarte das bolsas deve obedecer a um gerenciamento de resíduos que aborda os aspectos referentes à geração, segregação, acondicionamento, coleta, armazenamento, transporte, tratamento e disposição final dos resíduos gerados, bem como as ações de proteção de saúde pública e meio ambiente. Os motivos para a ocorrência dos descartes variam muito, os que ocorrem com maior frequência são: Rompimento da bolsa de coleta; prazo de validade vencido; falta de informações com relação ao doador e a coleta do sangue; qualificação deficiente dos profissionais; descarte subjetivo; desvios nos processos de transfusão (perfuração do paciente sem avaliação adequada das condições clínicas, ocasionando uma reação transfusional; adição de medicamento etc.) (HOSN, 2009).

Considerando a importância das etapas de transfusão sanguínea bem como carência de informação sobre o tema na região Norte, a pesquisa teve o objetivo de apresentar a prevalência e caracterização dos descartes de hemocomponentes no Hemocentro de Rio Branco-AC no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2015.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa obteve autorização do Comitê de Ética e Pesquisa através do parecer nº. 2.361.730. Trata-se de um estudo descritivo transversal retrospectivo, com abordagem quantitativa em que foram analisados os dados contidos no sistema de informação do DATASUS (HEMOVIDA), programa informatizado que armazena todos os registros de doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Acre - HEMOACRE entre o período de janeiro de 2012 a dezembro de 2015, em Rio Branco-Acre.



O estudo foi desenvolvido no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Acre – HEMOACRE, uma instituição com personalidade jurídica de direito público, sem fins lucrativos, vinculada na esfera federal a Agência Nacional de Vigilância Sanitária e, na esfera estadual, a Secretaria de Estado de Saúde do Acre – SESACRE. É responsável pela política estadual do sangue, tendo em vista a operacionalização das atividades de planejamento, execução, controle e avaliação da assistência hemoterápica e hematológica (SESACRE, 2017).

A amostra do estudo foi constituída por bolsas descartadas por diversos motivos, e incluso na pesquisa todos os registros de descartes de bolsas entre o período de janeiro de 2012 a dezembro de 2015, bem como excluídos os descartes dos anos anteriores a 2012 e posteriores a 2015.

Os dados foram descritos de forma quantitativa como frequência absoluta e percentual e a prevalência de descarte de bolsas em cada ano. Os resultados médios obtidos foram analisados com o auxílio do programa OriginPro versão 8.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período de estudo foi registrado uma média de 9.764 doações sanguíneas no HEMOACRE, das quais foram separadas bolsas aptas e inaptas. Para determinar a aptidão ou inaptidão de bolsas coletadas e fracionadas, regido pela ANVISA, RDC 57 de 16 de dezembro de 2010 e a Portaria 1.353 de 13 de junho de 2011, no HEMOACRE é realizado o processo de triagem sorológica a partir de amostras que são coletadas por meio de dispositivos próprios integrados ao sistema de bolsa que permitam a coleta das amostras no início da doação, sem a abertura do sistema (BRASIL, 2010; BRASIL, 2010). Os tubos devem ser padronizados de acordo com o método e o equipamento utilizado, além disso, devem ser devidamente identificados com os dados do respectivo doador podendo assim correlacionar a amostra à bolsa de sangue que está sendo coletada. A composição da triagem sorológica é dada pelos seguintes exames:

- Testes por Quimioluminescência: HIV (I e II); HTLV I/II; Hepatite B (HBsAg e Anti-HBc); Hepatite C; Doença de Chagas;
- Testes de NAT (Nucleic Acid Test): HIV, HCV, HBV.
- Teste por floculação de VDRL: Sífilis.
- Pesquisa de Parasitas sanguíneos: *Plasmodium* sp.

A partir do resultado dos testes sorológicos combinados com os exames imunohematológicos (Determinação de grupos sanguíneos ABO e Rh; Pesquisa de anticorpos irregulares (PAI) e a pesquisa de hemoglobina S) que o destino de uma bolsa sanguínea é decidido, podendo ser utilizada nos procedimentos transfusionais ou descartadas quando necessário (Figura 1).

Figura 1. Fluxograma resumido do processo de triagem das bolsas sanguíneas do Hemoacre.

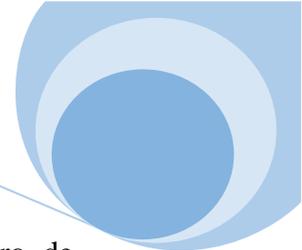


Fonte: Próprio Autor

No Hemocentro Regional de Rio Branco, entre o período de janeiro de 2012 a dezembro de 2015 foram registradas 41.711 doações, das quais 32.473 (77,85%) originaram hemoderivados designados como aptos e 9.238 (22,14%) inaptos, através dos processos avaliativos da instituição (Gráfico 1).

Gráfico 1. Distribuição das doações aptas e inaptas no Hemocentro de Rio Branco, entre Janeiro de 2012 a Dezembro de 2015.



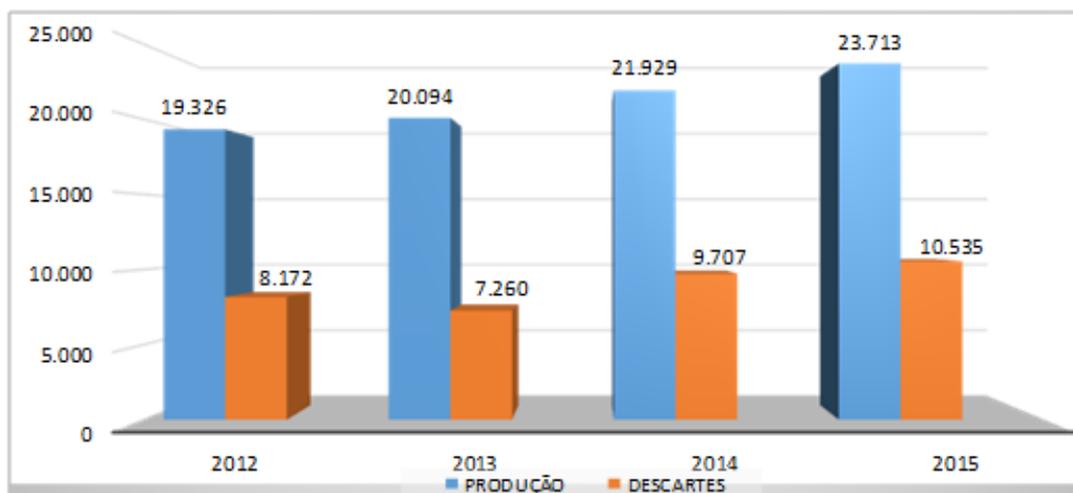


Fonte: Próprio Autor

Lieber (2016), em um levantamento de dados realizado no Hemocentro de Campinas durante o ano de 2011, informou que de um total de 63.731 coletas, foram analisados os relatórios de 1.044 doadores (63% homens), cuja bolsa de sangue foi bloqueada na triagem sorológica, devida a reatividade contra, pelo menos um dentre 10 marcadores sorológicos, representando um índice de inaptidão de 1,6%. Martins *et al.*, (2015), em estudo realizado no Hemocentro Regional de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, no período de janeiro de 2013 a junho de 2014, registraram 6.139 doações, destas 280 foram consideradas inaptas. Em estudo feito no hemocentro de Maringá – PR no ano de 2011, registrou-se 8.337 doadores de sangue, porém, 278 (3,37%) doações tiveram suas bolsas descartadas (ADAM, 2016).

Durante o período de estudo realizado no HEMOACRE, o índice de descartes de hemocomponentes correlacionado ao de produção de hemocomponentes no fracionamento, é bastante expressivo. No ano de 2015, a diferença entre o número de doações e o de descartes, é de 13.178 (Gráfico2).

Gráfico2. Distribuição da produção e descartes dos hemocomponentes no Hemocentro de Rio Branco.



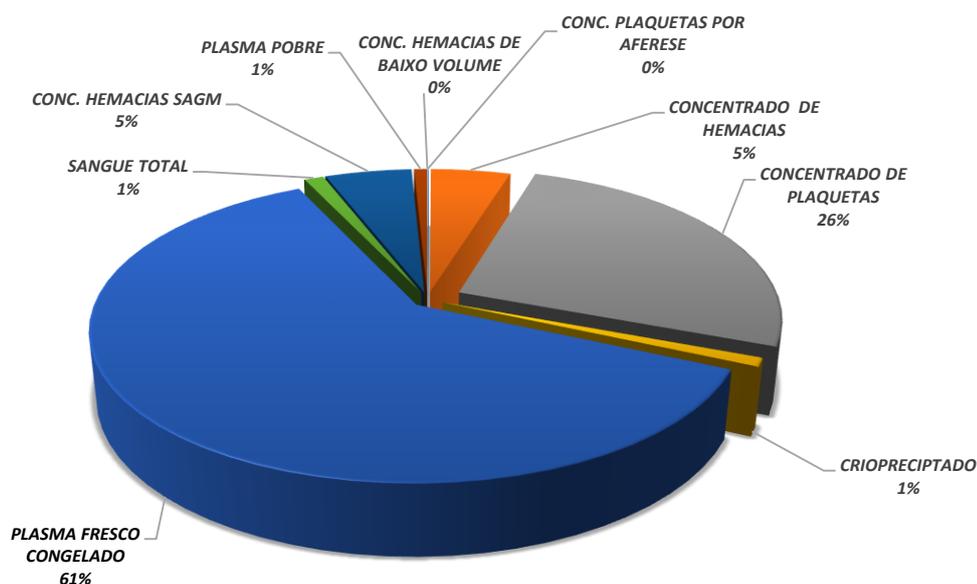
Fonte: Próprio Autor

Os Hemocomponentes e Hemoderivados são obtidos a partir de sangue dos doadores. Atualmente existem técnicas de processamento que permitem ao paciente utilizar apenas os hemocomponentes e hemoderivados que ele necessita, sendo assim, minimizam-se os riscos inerentes ao processo de transfusão e atribuem-se maiores

benefícios e aproveitamento da população a partir de uma única doação (PROIETTI *et al.*, 2015).

No período de estudo, no hemocentro de Rio branco, observou-se que de janeiro de 2012 a dezembro de 2015 os descartes de hemocomponente ocorreram por diversos motivos, sendo os principais representados no Gráfico 3.

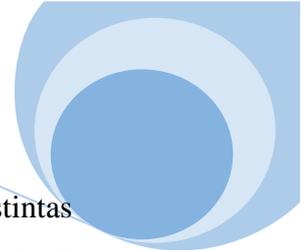
Gráfico 3. Distribuição dos descartes dos hemocomponentes no Hemocentro de Rio Branco.



Fonte: Próprio Autor

De todos os hemocomponentes, os que se apresentaram com maior frequência de descarte foram o concentrado de plaquetas, plasma fresco congelado e concentrado de hemácias que apareceram em todos os anos com maior frequência o descarte por diferentes motivos.

O Concentrado de plaquetas equivale de uma suspensão de plaquetas em plasma, feito através de dupla centrifugação de uma unidade de sangue total. É indispensável, pelo menos $5,5 \times 10^{10}$ plaquetas em 50-60 ml de plasma, diferente em unidades por aférese com pelo menos $3,0 \times 10^{11}$ plaquetas em 200-300 ml de plasma e obrigado a serem posto em lugar adequado em temperatura de 20 a 24°C, com agitação permanente, por até cinco dias. (RAZOUK & REICHE, 2004).



Conforme a Portaria MS nº 2712 (BRASIL, 2013) existe duas formas distintas que são aplicados para o alcance de plaquetas pela centrifugação de sangue total. O primeiro representa a centrifugação em duas etapas, sendo a primeira etapa uma centrifugação leve onde adquire o plasma rico em plaquetas (PRP) e que será centrifugado novamente, porém com alta rotação para a obtenção do concentrado de plaquetas. O segundo consiste na extração do *buffy coat* ou camada leucoplaquetária, que habitualmente com o préstimo de extratores automatizados de plasma utiliza de bolsas top (saída superior da bolsa) *and bottom* (saída inferior da bolsa).

Na Tabela 1, pode-se observar que segundo o relatório anual do HEMOACRE, temos que o principal motivo de descarte do concentrado de plaquetas por aférese está diretamente relacionado ao prazo de validade, 75,54%, visto que, esse mesmo motivo foi detectado por quatro anos seguidos se comparados aos outros motivos de descartes.

Tabela 1. Descarte de concentrado de plaquetas por aférese entre janeiro de 2012 e dezembro de 2015 no Hemocentro de Rio Branco.

MOTIVO	ANO				MÉDIA
	2012	2013	2014	2015	
COLORAÇÃO ANORMAL	0,0	28,57	0,0	0,0	28,57
CONTAMINAÇÃO POR HEMACIAS	0,0	0,0	6,25	0,0	6,25
FORA DO PRAZO DE VALIDADE	66,67	57,14	93,75	84,62	75,54
INTERCORRENCIA NA COLETA	0,0	14,29	0,0	0,0	14,29
LIPEMIA	16,67	0,0	0,0	7,69	6,09
SOROLOGIA REAGENTE	16,67	0,0	0,0	7,69	6,09

Legenda: *% de descartes em relação às bolsas DESCARTADAS

Segundo Moura (2015), em uma avaliação do processo de produção e identificação dos principais fatores de descarte de hemocomponentes, baseado nos dados de produção do período de 2010 a 2012 no Hemocentro Coordenado HEMEPAR Curitiba, 84,7% dos motivos de descarte de CP estão diretamente relacionados ao vencimento de CP com sorologia já executada e apta para o uso; a contaminação dos CP por hemácias e o “*Swirling*” inferior a 2 + (duas cruces).

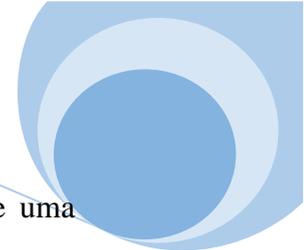
Na Tabela 2, é possível analisar que no descarte de plaquetas três fundamentais motivos foram mais elevados durante os anos, sendo eles, 5,68% contaminação por hemácias, 29,1% sorologia reagente e com 59,2% fora do prazo de validade. Verificando as tabelas são admissíveis perceber que em todos os anos o prazo de

validade aparece como principal motivo de descartes de hemocomponentes. Isso pode ser explicado devido ao risco de contaminação bacteriana no acondicionamento das bolsas em temperatura ambiente, cujo prazo de validade deve ser respeitado. O risco de sepsis é elevado porém é maior quando a transfusão de uma unidade de plaqueta obtida por aférese de um único doador. O aumento do risco de crescimento bacteriano com o tempo justifica a vida média das plaquetas estocadas a 20°-24°C ser de cinco dias (RAZOUK & REICHE, 2004).

Tabela 2. Descarte de plaquetas entre janeiro de 2012 e dezembro de 2015 no Hemocentro de Rio Branco.

MOTIVO	ANO				MÉDIA
	2012	2013	2014	2015	
AUSÊNCIA DE SWIRLING	0,0	3,65	2,12	0,03	1,45
BOLSA FURADA	0,09	0,0	0,07	0,0	0,24
COLORAÇÃO ANORMAL	2,78	1,61	0,03	0,23	1,16
CONTAMINAÇÃO POR HEMÁCIAS	8,81	9,51	2,63	1,80	5,68
CONTROLE DE QUALIDADE	0,19	0,66	0,0	0,0	0,21
DESCARTE SUBJETIVO	0,09	0,0	0,0	0,06	0,03
DESENVOLVIDO SEM CONDIÇÕES DE USO	0,0	0,0	0,24	0,0	0,24
ESVERDEADO	0,61	0,12	0,0	0,06	0,33
FORA DO PRAZO DE VALIDADE	70,47	55,8	78,48	32,34	59,2
HEMOLISE ANTES DO VENC.	0,0	0,0	0,0	0,33	0,33
ICTÉRICO	0,75	0,24	0,13	0,19	0,32
INTERCORRENCIA NA COLETA	0	0	0,07	0	0,07
INTERCORRENCIA NA DISTRIBUIÇÃO	0,09	0	0,03	0,11	0,05
INTERCORRENCIA NA IMUNOHEMATO.	0,0	0,06	0,03	0,0	0,15
INTERCORRENCIA NA SOROLOGIA	0,0	0,0	0,0	0,77	0,77
INTERCORRENCIA NA TRIAGEM CLÍNICA	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00
INTERCORRENCIA NO ESTOQUE	0,05	0,0	0,0	0,0	0,05
INTERCORRENCIA NO FRACIONAMENTO	0,05	0,06	0	0,33	0,22
LIPEMIA	1,6	2,33	0,78	0,53	1,31
PRESENÇA DE GRUMOS	0,0	2,21	0,47	0,37	0,76
SISTEMA ABERTO	0,0	0,0	0,0	0,11	0,11
SOROLOGIA REAGENTE	14,23	23,39	14,57	64,57	29,1
VOLUME EXCEDENTE	0,05	0,06	0,0	0,11	0,05
VOLUME INSUFICIENTE	0,0	0,06	0,2	0,22	0,25
VOTO POR AUTO-EXCLUSÃO	0,14	0,06	0,1	0,44	0,18

Legenda: *% de descartes em relação às bolsas DESCARTADAS



O concentrado de hemácias é conseguido por meio da centrifugação de uma bolsa de sangue total e da remoção da maior parte do plasma, ou também, por aférese e coletado de doador único. O CH possui em pouca quantidade na sua composição: Leucócitos, Plaquetas e Plasma (PROIETTI *et al.*, 2015). Sendo assim, o sistema concede o alcance de duas unidades em um mesmo método (coleta de hemácias duplas). O volume pode diversificar entre 220 e 280 mL e mantido em temperaturas de 2°C e 6 °C com validade entre 35 e 42 dias, correspondente a solução conservadora e o hematócrito final devem ficar entre 65% a 75%. E caso não seja utilizado no prazo de validade à bolsa deve ser descartada (BRASIL, 2015).

Para garantir a anticoagulação e a conservação dos hemocomponentes eritrocitários, são utilizadas soluções preservantes e anticoagulantes como o CPDA- 1, que é composto por ácido cítrico, citrato de sódio, fosfato de sódio e dextrose, e garante uma validade de 35 dias após a coleta. Soluções aditivas são utilizadas para aumentar a sobrevivência das hemácias, como o SAGM, o qual é composto por soro fisiológico, adenina, glicose e manitol (PROIETTI *et al.*, 2015). O aprovisionado em soluções aditivas (adenina, glicose e manitol) tem hematócritos entre 52-60% com validade de 42 dias e passa a possuir menor concentração de proteínas e leucócitos, o que pode auxiliar na prevenção de diversas reações transfusionais (PROIETTI *et al.*, 2015).

É possível analisar na Tabela 3 os motivos de descarte do CH no HEMOACRE durante o período de estudo, o motivo de descarte mais expressivo ocorrido no período foi por sorologia reagente (80, 95%). Verificando com a Tabela 4, é possível notar que o principal motivo de descarte, também foi por sorologia reagente, sendo o Concentrado de Hemácias SAGM 77,15%. Além disso, há o Concentrado de Hemácias de Baixo Volume, um hemocomponente pouco produzido, também descartado por sorologia reagente (66,67%).

Em análise realizada a partir de outros estudos por Reis *et al.*, (2017) o descarte de hemocomponentes no Paraná, no período de 2010 a 2012, foi possível observar que 80% do total da produção de concentrado de hemácias (CH) foi descartada em função do vencimento de bolsas com sorologia já realizada e apta para o uso, devolução de bolsas de CH sem condição de uso, rompimento de bolsas e pela concentração de hemoglobina inferior a 45g/ dL. No Rio Grande do Norte, entre o período de 2004 a 2007 o descarte CH ocorreu em 51% por vencimento de bolsas.



Tabela 3. Descarte de concentrado de Hemácias entre janeiro de 2012 e dezembro de 2015 no Hemocentro de Rio Branco.

MOTIVO	ANO				MÉDIA
	2012	2013	2014	2015	
CONTROLE DE QUALIDADE	0,26	0,0	0,0	0,0	0,06
DESCARTE SUBJETIVO	0,52	0,0	0,29	0,66	0,97
FORA DO PRAZO DE VALIDADE	5,24	0,0	19,88	32,34	14,36
HEMOLISE ANTES DO VENC.	0,0	0,0	0,29	0,33	0,15
INTERCORRENCIA NA COLETA	0,0	0,0	0,0	0	0,0
INTERCORRENCIA NA DISTRIBUIÇÃO	0,0	0,0	0,0	0,11	0,02
INTERCORRENCIA NA SOROLOGIA	0,0	0,0	0,0	0,77	0,19
INTERCORRENCIA NA TRIAGEM CLÍNICA	0,26	0,0	0,0	0,0	0,06
INTERCORRENCIA NO FRACIONAMENTO	2,09	0,40	0,43	0,33	0,81
SISTEMA ABERTO	0,0	0,0	0,0	0,11	0,02
SOROLOGIA REAGENTE	90,05	91,53	77,67	64,57	80,95
VOLUME EXCEDENTE	0,0	0,0	0,0	0,11	0,02
VOLUME INSUFICIENTE	0,0	0,0	0,57	0,22	0,19
VOTO POR AUTO-EXCLUSÃO	0,79	1,61	0,86	0,44	0,92

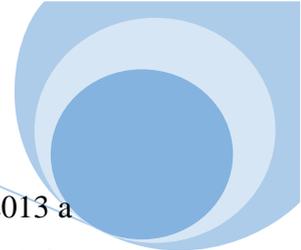
Legenda: *% de descartes em relação às bolsas DESCARTADAS

Tabela 4. Descarte de concentrado de Hemácias SAGM entre janeiro de 2012 e dezembro de 2014 no HEMOACRE.

MOTIVO	ANO			MÉDIA
	2012	2013	2014	
BOLSA FURADA	0,24	0,19	0,0	0,14
DESCONGELAMENTO	0,24	0,0	5,0	1,74
DEVOLVIDO SEM CONDIÇÕES DE USO	0,72	0,58	0,0	0,43
FORA DO PRAZO DE VALIDADE	8,65	10,53	25,83	11,25
HEMOLISE ANTES DO VENC.	4,33	1,75	2,50	2,86
INTERCORRENCIA NA COLETA	0,0	0,19	0,0	0,06
INTERCORRENCIA NA DISTRIBUIÇÃO	0,0	0,0	0,83	0,27
INTERCORRENCIA NO FRACIONAMENTO	1,44	0,19	0,83	2,46
SISTEMA ABERTO	0	0,78	0	0,26
SOROLOGIA REAGENTE	82,93	85,19	63,33	77,15
VOLUME EXCEDENTE	0,24	0	0	0,08
VOTO POR AUTO-EXCLUSÃO	1,2	0,58	1,66	1,14

Legenda: *% de descartes em relação às bolsas DESCARTADAS

A taxa de descarte sorológico nos bancos de sangue no Brasil varia de 10 a 20% (SALLES *et al.*, 2003). Em um estudo transversal prospectivo, realizado no

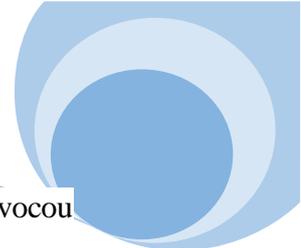


Hemocentro Regional de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, no período de janeiro de 2013 a junho de 2014, obteve-se o resultado de que foram realizadas 6.139 doações no período do estudo, das quais 280 (4,56%) foram descartadas por apresentarem algum marcador sorológico positivo. 5,4% dos doadores apresentaram positividade par anti-HBc, 7,5% para HBsAg, 7,5% para anti-HCV, 5,4% para anti-HIV, 6,8% para HIV Ag-AC, 2,1% para HTLV I/II, 22,9% para doença de Chagas e 13,2% para Sífilis (MARTINS *et al.*, 2015). Diante tais informações, é possível compreender que a sorologia reagente ocorre por um estado físico de cada doador.

O plasma fresco congelado (PFC) consiste na porção líquida do sangue, composto por água, proteínas (albumina, globulinas, fatores de coagulação), lipídios e carboidratos (PROIETTI *et al.*, 2015; BRASIL, 2015). É o segmento acelular do sangue que é resultado de uma centrifugação a partir da unidade de sangue total e transição em circuito fechado para uma bolsa satélite. Pode ser resultante também do processamento feito em equipamentos automáticos de aférese. É totalmente congelado no período de até 8 horas após a coleta. Sua validade varia de acordo com as temperaturas de armazenamento, sendo 12 meses (se congelado entre -20 e -30°C) ou 24 meses (temperaturas menores que -30°C). Possui validade de armazenamento de 12 meses em temperatura adequado (BRASIL, 2015). Além deste hemocomponente plasmático, há o plasma pobre ou isento de crioprecipitado (PIC), cujo é o resultado da retirada do crioprecipitado, em sistema fechado. O armazenamento é feito em temperatura mínima de 18°C negativos sendo, porém, recomendada temperatura inferior ou igual a 25°C negativos. A validade é igual à do PFC onde o volume aproximado de 150 mL a 200 mL.

Segundo Moura (2015), em uma avaliação do processo de produção e identificação dos principais fatores de descarte de hemocomponentes, baseado nos dados de produção do período de 2010 a 2012 no Hemocentro Coordenado HEMEPAR Curitiba 82% dos fatores de descarte de PFC estão associados à Lipemia, volume fora dos parâmetros e ou coloração anormal. Dos quatro principais fatores de descarte, três estão ligados diretamente a parâmetros de controle de qualidade de produção.

Podemos observar através dos dados da Tabela 5, que os principais descartes ocorridos no período do estudo de PFC possuem percentual de 10,33% para amostras com sorologia reagente, 12,22% para amostra esverdeada e o de maior índice que foi 28,78% para amostras lipêmicas. Em correlação com o Hemocentro Regional de Campina Grande, é possível constar que a lipemia de PFC é um problema corriqueiro nos



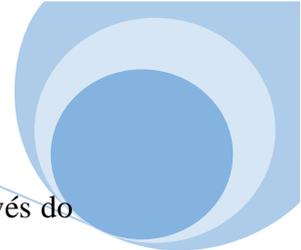
hemocentros do país, pois no mês de abril, a gordura presente em alta quantidade provocou o descarte de 321 bolsas de plasma, o que corresponde a 17,1% do total de doações, que foi de 1.868 no Hemocentro Regional de Campina Grande (GOVERNO DA PARAÍBA, 2015). Esse quadro de Lipemia nas bolsas está relacionado com a má alimentação do doador, ocorrendo assim, a existência de quantidade anormal de gorduras no sangue. Portanto, cabe ao profissional observar o material e fazer as recomendações necessárias de jejum ao doador para impedir interferências nos processos sorológicos.

Tabela 5. Descarte concentrado de plasma fresco congelado entre janeiro de 2012 e dezembro de 2015 no Hemocentro de Rio Branco.

MOTIVO	ANO				MÉDIA
	2012	2013	2014	2015	
AUSENCIA DE SWIRLING	0,0	0,0	0,04	0,0	0,01
BOLSA FURADA	3,54	4,86	3,14	2,47	3,50
COLORAÇÃO ANORMAL	3,54	1,15	0,04	0,28	1,25
CONTAMINAÇÃO POR HEMÁCIAS	6,94	9,9	7,38	6,91	7,78
CONTROLE DE QUALIDADE	0,54	0,11	0,0	0,03	0,17
DESCARTE P.F. (TRALI)	0,0	0,0	0,0	25,19	6,29
DESCARTE PAI POSITIVO	0,04	0,04	0,05	0,05	0,04
DESCARTE SUBJETIVO	0,06	0,0	0,04	0,06	0,04
DESCONGELAMENTO	17,19	0,72	11,58	0,09	7,39
ESVERDEADO	20,07	16,92	7,11	4,78	12,22
FORA DO PRAZO DE VALIDADE	0,26	0,13	2,25	11,06	3,42
HEMOLISE ANTES DO VENC.	0,02	0,0	0,0	0,0	0,005
ICTÉRICO	0,54	0,68	0,29	0,44	0,48
INTERCORRENCIA NA TRIAGEM CLÍNICA	0,02	0,0	0,0	0,0	0,005
INTERCORRENCIA NO FRACIONAMENTO	0,22	0,06	0,05	0,03	0,09
LIPEMIA	23,09	36,94	32,05	23,07	28,78
PLASMA EXCEDENTE	11,44	5,24	6,85	0,02	5,88
PLASMA ISENTO DE CRIO.	0,0	4,03	4,02	5,83	3,47
PLASMA POBRE	0,06	5,41	6,47	1,25	3,29
SOROLOGIA REAGENTE	12,16	13,06	9,59	6,52	10,33
TUBO QUEBRADO	0,04	0,0	0,0	0,0	0,01
VOLUME EXCEDENTE	0,04	0	0	0,02	0,01
VOLUME INSUFICIENTE	0,08	0,61	8,84	11,64	5,29
VOTO POR AUTO-EXCLUSÃO	0,12	0,15	0,22	0,11	0,15

Legenda: *% de descartes em relação às bolsas DESCARTADAS

O hemocomponente crioprecipitado (CRIO) é um concentrado de proteínas plasmáticas pobre em albumina, mas contém quantidades consideráveis de fibrinogênio,



Fator VIII, Fator de Von Willebrand, Fator XIII e Fibronectina. É preparado através do descongelamento de uma unidade de PFC à temperatura de 1 a 6°C. Feito o descongelamento, retira-se o plasma sobrenadante deixando na bolsa a proteína precipitada e 10 a 15mL deste plasma. Em seguida, o material é novamente congelado no período de 1 hora e possui validade de 12 meses (BRASIL, 2015).

Tabela 6. Descarte de crioprecipitado entre janeiro de 2012 e dezembro de 2015 no Hemocentro de Rio Branco.

MOTIVO	ANO				MÉDIA
	2012	2013	2014	2015	
FORA DO PRAZO DE VALIDADE	100	0	100	0	50
LIPEMIA	0	100	0	100	50

Legenda: *% de descartes em relação às bolsas DESCARTADAS.

Na Tabela 6, apresentam-se os principais fatores de descarte de Crioprecipitado do ano de 2012 a 2015. É possível verificar que houve uma variação anual e de motivos, visto que, no ano de 2012 e 2014, (50%) dos descartes de Crio estão relacionados à bolsa fora do prazo de validade; e nos anos de 2013 e 2015 o principal motivo de descarte foi por lipemia com (50%). Entretanto, é notável que em relação à tabela 1 e 2 o descarte por prazo de validade é mais uma vez evidenciado, sendo o mesmo, o principal motivo de diferentes hemocomponentes, devido a não utilização dos mesmos, pois quando ocorre uma grande produção dessas bolsas sem necessidade pode ocorrer o acúmulo. Visto que, alguns hemocomponentes são utilizados apenas em casos especiais.

A transfusão de crioprecipitado está indicada sempre que houver hemorragia, e diminuição do fibrinogênio abaixo de 10 mg/dL. Além disto, o crioprecipitado está indicado para o tratamento dos pacientes com hemorragia por déficit de fator XIII, quando não houver em hipótese nenhuma, o concentrado de fator VIII industrial, disponível para uso (HEMORIO, 2014). Seguindo também, pela mesma quantidade de descarte pelo prazo de validade, a lipemia, apresentou a mesma porcentagem, uma vez que, uma amostra possui grande quantidade de lipídeos no sangue não serve para uso no processo de transfusão. Portanto, cabe ao profissional observar o material e fazer as recomendações necessárias de jejum ao doador para impedir interferências nos processos sorológicos.



Segundo Moura (2015), em um estudo elaborado para a identificação dos principais fatores de descarte de hemocomponentes, baseado nos dados de produção no Hemocentro Coordenado HEMEPAR Curitiba, mostrou que no ano de 2010, 2011 e 2012, as causas de 83,6% do descarte de crioprecipitado foram amplas e os índices de descarte por Lipemia e por armazenamento inadequado tornaram-se mais relevantes em comparações anuais. Enquanto que a Lipemia foi à causa de descarte de 3,8% das bolsas de CRIO em 2010, em 2011 este mesmo item foi responsável pelo descarte de 12,6% das bolsas.

O Sangue total se define como o sangue coletado (450 ml) de um doador misturado com a solução preservativa (63 ml) e anticoagulante em dimensões diferentes. Sendo esse, provisionado em refrigerador com temperaturas de 1° e 6° C e com período de estocagem correlativo ao anticoagulante utilizado na bolsa sanguínea: Citrato-Fosfato-Dextrose (CPD) - 21 dias e Citrato-Fosfato-Dextrose-Adenina (CPDA) - 35 dias (RAZOUK & REICHE, 2004).

Na Tabela 7, verificam-se dois motivos relevantes de descartes de sangue total, sendo eles, descarte subjetivo (33,91%) e volume insuficiente (45,18%), com um número elevado por quatro anos consecutivos. Buscando explicações para os tais motivos de descarte, vale ressaltar sobre o descarte subjetivo que desde a triagem clínica, o doador passa por um processo de questionamento para que a coleta não seja descartada por motivos qualquer e então não serem ultrapassadas as conclusões éticas de uma anamnese. O profissional responsável pode avaliar e optar pelo descarte subjetivo (artifício indireto aplicado em serviços de hemoterapia do país, que equivale na extinção da bolsa de sangue coletada), quando o triagista tem alguma falta de certeza em correspondência a verdade das informações que foi concedida pelo doador, que mesmo respondendo a várias questões possa colocar em risco a seguridade da transfusão (HEMOACRE, 2017). Ou seja, em relação ao descarte subjetivo deve ser averiguado tanto a anamnese verbal e não verbal de cada indivíduo.

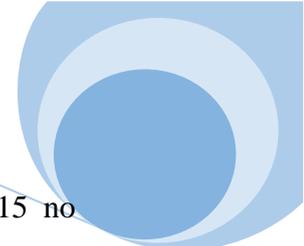


Tabela 7. Descarte de sangue total entre janeiro de 2012 e dezembro de 2015 no Hemocentro de Rio Branco.

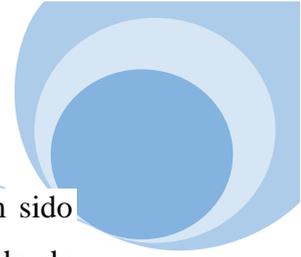
MOTIVO	ANO				MÉDIA
	2012	2013	2014	2015	
BOLSA FURADA	0,0	0,0	3,28	1,95	3,76
DESCARTE SUBJETIVO	22,83	34,31	27,87	50,65	33,91
HEMOLISE ANTES DO VENCIMENTO	2,17	1,96	0,82	0,0	4,33
INAPTO PELO SISTEMA ANTIGO	0,0	0,0	0,0	0,65	0,16
INTERCORRENCIA NA COLETA	2,17	2,94	4,92	3,25	3,32
INTERCORRENCIA NA TRIAGEM CLÍNICA	3,26	0,0	2,46	2,6	2,08
INTERCORRENCIA NO FRACIONAMENTO	3,26	8,82	1,64	11,04	6,19
SISTEMA ABERTO	0,0	0,0	1,64	0,0	0,41
SOROLOGIA REAGENTE	0,0	1,96	0,79	0,0	2,15
VOLUME EXCEDENTE	6,52	6,86	4,10	2,60	5,02
VOLUME INSUFICIENTE	58,7	43,14	51,64	27,27	45,18
VOTO POR AUTO-EXCLUSÃO	1,09	0,0	0,0	0,0	0,27

Legenda: *% de descartes em relação às bolsas DESCARTADAS.

Sobre o descarte por volume insuficiente, o qual foi o motivo que marcou o maior índice, pode-se dizer que esse problema está relacionado à quantidade da amostra de sangue coletada na hora da doação com quantidade de hemoconservante presente na bolsa de coleta, podendo ocorrer por diferentes motivos, como um erro técnico na hora da coleta, uma falta de controle de qualidade na hora da coleta, por parte do profissional que está realizando o processo ou até mesmo por uma incapacidade física do paciente, entre outros motivos (HEMOACRE, 2017).

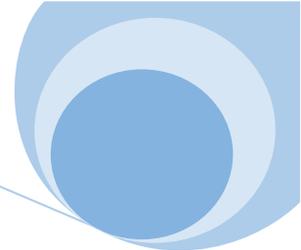
4. CONCLUSÃO

O maior índice de descarte foi registrado durante o ano de 2015, com 10.535 descartes para 23.713 hemocomponentes produzidos no fracionamento. O hemocomponente descartado com maior frequência durante os quatro anos de estudo foi o PFC por motivos de lipemia, exceto em 2015, que o principal motivo para descarte desse hemocomponente foi de P.F (Plasma Feminino) Trali (Trali é uma síndrome que se caracteriza por dispneia/desconforto respiratório agudo após uma transfusão sanguínea).



Entretanto, foi identificado que grande parte da produção das bolsas tem sido desprezada correspondente à condição como prazo de validade vencido, seguido de sorologia reagente (no caso de CH, CH SAGM e CH de baixo volume), lipemia (PFC e CRIO) e volume insuficiente (Sangue total). Tais motivos levam a crer em falhas entre o controle de estoque e a coleta, podendo ser solucionado através de um gerenciamento interno do sistema, visto que, em relação ao prazo de validade, alguns hemocomponentes não precisam ser produzidos em grande quantidade e os protocolos devem ser seguidos para manter o controle de qualidade. Uma vez que, o custo de funcionamento do sistema inclui diversos gastos.

Os descartes por volume insuficiente de sangue total estão entre os principais motivos de descartes e que pode ter sido causado por falha na hora da coleta pelo profissional responsável, quantidade de hemoconservante presente na bolsa ou incapacidade física do paciente. Porém, essas contrariedades podem ser motivadas em um novo sistema de qualidade de trabalho concedido a fim de assegurar uma maior utilização das bolsas, minimização de descartes e certificação da qualidade de serviço interno.



5. REFERÊNCIAS

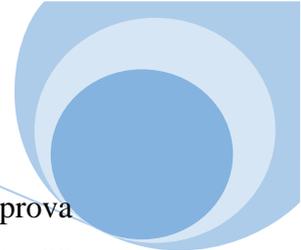
ADAM L. D. C. Descarte de bolsas de sangue por sorologia positiva para doença de chagas em bancos de sangue, 2016.

BORGES L. C.; BORGES, M. R. C.; Doe sangue, doe vida. In: 8º Encontro Conversando sobre extensão (8º CONEX), 2010, Paraná. Resumo Expandido. Paraná: UEPG, 2010. Disponível em: http://www.uepg.br/proex/conex/9/anais/9conex_anais/126.pdf. Acesso em: 12 maio. 2017.

BRASIL. Lei nº 10.205, de 21 de março de 2001. Regulamenta o § 4º do art. 199 da Constituição Federal, relativo à coleta, processamento, estocagem, distribuição e aplicação do sangue, seus componentes e derivados, estabelece o ordenamento institucional indispensável à execução adequada dessas atividades, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 21 março. 2002. Disponível em: <http://www2.camara.leg.br/legin/fed/lei/2001/lei-10205-21-marco-2001-364841-publicacaooriginal-1-pl.html>. Acesso em: 10 maio. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde; Departamento de Atenção Especializada e Temática. Guia para o uso de Hemocomponentes. Brasília, v. 2, 2015. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_uso_hemocomponentes_2ed.pdf Acesso em: 10 maio. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde; Departamento de Atenção Especializada. Aspectos Hemoterápicos Relacionados a Trali (Lesão Pulmonar Aguda Relacionada à Transfusão): Medidas para redução do risco. Brasília, v.1, 2010. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/aspectos_hemotrapicos_relacionados_trali.pdf. Acesso em: 20 novembro. 2017.



BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Nº 1.353, DE 13 DE JUNHO DE 2011. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos Hemoterápicos. Diário Oficial da União, 30 de novembro, 2010. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt1353_13_06_2011.html. Acesso em: 19 novembro 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.712, de 12 de novembro de 2013. Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. Diário Oficial da União, 13 Nov. 2013. Disponível em: <http://www.uel.br/hu/hemocentro/pages/arquivos/PORTARIA%20N%202.712%20DE%2012%20DE%20NOVEMBRO%20DE%202013.pdf>. Acesso em: 10 maio 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. RDC Nº 57, DE 16 DE DEZEMBRO DE 2010. Determina o Regulamento Sanitário para Serviços que desenvolvem atividades relacionadas ao ciclo produtivo do sangue humano e componentes e procedimentos transfusionais. Diário Oficial da União, 17 dezembro. 2010. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0057_16_12_2010.html. Acesso em: 19 novembro. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. RDC, Nº 34, de 11 de junho de 2014. Dispõe sobre as Boas Práticas no Ciclo do Sangue. Diário Oficial da União, 02 Jun. 2014. Disponível em: https://controllab.com/pdf/rdc_57_2010.pdf. Acesso em: 10 maio. 2017.

REIS D. J. C.; *et al.* Análise da distribuição de hemocomponentes na hemorrede do Distrito Federal. Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR, v. 21, n. 2, 2017.

GOVERNO DA PARAÍBA. Consumo de alimentos gordurosos prejudica doação de sangue. 2015. Disponível em: <http://paraiba.pb.gov.br/consumo-de-alimentos-gordurosos-prejudica-doacao-de-sangue/>. Acesso em: 19 novembro. 2017.

HEMORIO. Protocolos de Tratamento: Hematologia e Hemoterapia. 2. Ed. 271 p. Rio de Janeiro: HEMORIO, 2014. Disponível em: <http://www.hemorio.rj.gov.br/protocolo.pdf>. Acesso em: 19 novembro 2017.



HOSN C. U. R. C. A. Análise do descarte de hemocomponentes no hemocentro regional de Araguaína - TO. Dissertação (Mestrado) Universidade Católica de Goiás. Universidade Estadual de Goiás. Centro Universitário de Anápolis. p. 95, 2009.

LIEBER S. R. Descarte de bolsas de doadores de sangue por inaptidão sorológica no hemocentro de campinas, durante o ano de 2011. Sínteses: Revista Eletrônica do SIMTEC, v. 4, n. 4, p. 199-199, 2016.

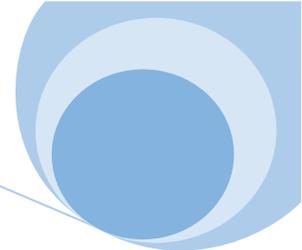
MARTINS A. P. B.; *et al.* Soroprevalência de doenças infecciosas em doadores de sangue do Hemocentro regional de Cruz Alta-Rio Grande do Sul. Clinical & Biomedical Research, v. 35, n. 4, 2015.

MOURA E. L. Identificação dos fatores de descarte de bolsas na produção de hemocomponentes no Hemocentro Coordenador da Rede HEMEPAR, 2015.

PROIETTI A. B. F. C.; *et al.* Hemoterapia: Condutas para a Prática e Clínica. Minas Gerais: HEMOMINAS. v.1. p. 71, 2015.

RAZOUK F. H.; REICHE E. M. V. Caracterização, produção e indicação clínica dos principais hemocomponentes. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v. 26, n. 2, p. 126-34, 2004.

SALLES N. A.; *et al.* Descarte de bolsas de sangue e prevalência de doenças infecciosas em doadores de sangue da Fundação Pró-Sangue/Hemocentro de São Paulo. 2003.



Capítulo 26

PERFIL FITOQUÍMICO, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA E MODULADORA DO EXTRATO ETANÓLICO DOS FRUTOS DE *Capsicum frutescens* L. (Solonaceae)

Bárbara F Melo¹, Raul S Andreza², Fabíola FG Rodrigues³, José GM Costa⁴

¹Biomédica, Docente, Mestra em Bioprospecção Molecular – Universidade Regional do Cariri (URCA), Crato/CE.

²Biomédico, Mestre em Farmacologia Clínica – Universidade Federal do Cariri (UFC) Docente da Faculdade Ciências Médicas Aggeu Magalhães (FAMA), Faculdade de Ciências Exatas e Humanas do Sertão do São Francisco (FACESF), Salgueiro/PE

³Docente do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio (UNILEÃO) Doutorado em Biotecnologia – Universidade Estadual do Ceará (UECE), Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN), Universidade Regional do Cariri (URCA), Crato/CE.

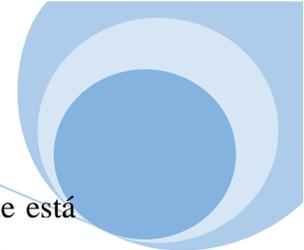
⁴Docente Coorientador, Doutorado em Química de Produtos Naturais – Universidade Federal do Ceará (UFC), Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN), Universidade Regional do Cariri (URCA), Crato/CE.

1. INTRODUÇÃO

A exploração de fontes naturais como recurso terapêutico é uma prática antiga e que se perpetuou ao longo da história da humanidade. Primeiramente observou-se a utilização de matéria vegetal, mas com o tempo veio à descoberta do valioso potencial medicinal das frutas, além do seu conhecido valor nutricional (IHA *et al.*, 2008).

Antioxidantes são substâncias que atuam neutralizando ou prevenindo os danos celulares causados pelos radicais livres que estão em excesso nos quadros de estresse oxidativo (RATNAM *et al.*, 2006). O grande número de evidências que apontam para uma correlação entre o estresse oxidativo e o desenvolvimento de várias doenças, vem despertando o interesse dos cientistas para a importância da atuação e descoberta de novas substâncias com capacidade antioxidante (NIKI, 2010).

A atividade antimicrobiana consiste em controlar ou inibir de forma completa os diversos microrganismos, sejam fungos ou bactérias (BRITO *et al.*, 2010). Dentre os



microrganismos patogênicos destacam-se *Streptococcus mutans* uma bactéria, que está propícia a mudanças ambientais, representado pelos biofilmes dentários envolvidos na manutenção da homeostase dos ecossistemas orais (THUNHEER; GMU & GUGGENHEIM, 2004). Assim também *Staphylococcus aureus* é um patógeno encontrado em superfícies epidérmicas e mucosas (UZÊDA, 2002).

Capsicum frutescens, conhecida como pimenta malagueta é um pequeno arbusto com 0,9 a 1,2 m de altura, nativo das regiões tropicais da América Central e do Sul. Os frutos medem de 1 a 3 cm de comprimento por 0,4 a 0,5 cm de largura, apresentando elevada pungência e odor forte (CARVALHO *et al.*, 2006). Além do seu valor nutricional, as pimentas também são importantes fontes de vitaminas E e C assim como de compostos fenólicos, excelentes antioxidantes naturais (REIFSCHNEIDER, 2000).

A exploração de *C. frutescens* teve origem no início do povoamento humano nas Américas, sendo relatada a sua utilização na América Latina desde a época pré-hispânica (SANTOS; SILVA & OLIVEIRA, 2008). No que se refere ao emprego medicinal desta planta, é provável que o mesmo tenha precedido aos demais, inclusive o alimentício, durante seu processo de domesticação (ROMAN *et al.*, 2011).

Diante do enfoque deste trabalho e a observação da vasta utilização na medicina popular de *C. frutescens*, objetivou-se a identificação dos metabólitos secundários desta espécie, a quantificação dos compostos fenólicos e teor de vitamina C, assim como avaliação da atividade antioxidante, antimicrobiana e moduladora.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

COLETA E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

Foram utilizados frutos maduros da pimenta malagueta (*C. frutescens*), obtidos no Sítio Riacho do Meio na zona rural da cidade de Barbalha – CE. Um exemplar da planta foi depositado no Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima da Universidade Regional do Cariri (URCA) e identificado com o registro 40568.

OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO

Para obtenção do extrato etanólico o processo utilizado foi o de extração a frio com solvente orgânico, segundo metodologia de Matos (1997). O extrato etanólico foi

preparado por imersão de 500g do fruto fresco em etanol por 48 horas. Após esse período foi filtrado e destilado em rotaevaporador. O rendimento do extrato bruto foi de 3,8%.

PROSPECÇÃO QUÍMICA

Os testes químicos para detectar classes de metabólitos secundários foram realizados seguindo o método descrito por Matos (1997). Esses ensaios se baseiam na observação visual por mudança de coloração ou formação de precipitado após a adição de reagentes específicos.

DETERMINAÇÃO DE VITAMINA C

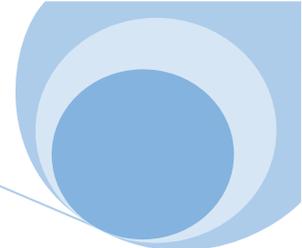
O teor de ácido ascórbico foi determinado por método titulométrico, que se baseia na oxidação do ácido ascórbico pelo iodato de potássio. Para o cálculo do teor de vitamina C utilizou-se a fórmula: (AOAC, 1984).

$$\text{Vitamina C (mg/100g)} = V \text{ gasto} \times 100 \times \text{fator de correção} / \text{Peso da amostra}$$

DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS

A concentração de fenóis totais foi determinada pelo método espectrofotométrico baseado em procedimentos descritos por Singleton; Orthofer & Lammela-Ranvenson, (1999). Concentrações variadas do extrato foram misturadas com 200 µL de solução de Folin-Ciocalteu a 10% e 400µL de solução de carbonato de sódio a 7,5%. A mistura foi incubada a 45°C ao abrigo da luz durante 15 minutos para que ocorresse a reação.

O controle em branco foi analisado simultaneamente com água destilada no lugar da amostra. A absorbância foi determinada em comprimento de onda de 765 nm. O mesmo procedimento foi realizado para o ácido gálico, utilizado como padrão de comparação de compostos fenólicos.



ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (VIA RADICAL DPPH)

O método utilizado para a determinação da atividade antioxidante via radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) foi desenvolvido por Brand-Willians; Cuvelier & Berset (1995) com modificações por Mensor *et al.*, (2001).

As amostras para a realização do ensaio foram preparadas adicionando-se 1 mL da solução de DPPH (60 µM) em 2,5 mL de soluções do extrato que foram diluídas em metanol nas concentrações de 10, 25, 50, 125 e 250 µg/mL, em triplicata. O teste em branco foi realizado adicionando-se 1 mL de metanol a 2,5 mL das concentrações dos extratos. Como controle negativo foi utilizada a mistura de 1 mL da solução de DPPH com 2,5 mL de metanol e como controle positivo foi utilizado 2,5 mL das concentrações de BHT (butil-hidroxitolueno) e 1 mL da solução de DPPH.

Após o tempo de reação (ao abrigo da luz) de 30 min das amostras preparadas, as absorbâncias foram lidas com auxílio de Espectrofotômetro com comprimento de onda ajustado para 515 nm. A atividade antioxidante (AA) das amostras por sequestro do DPPH foi expressa em porcentagem, segundo a equação apresentada:

$$\%AA = \frac{[Abs.contrôle - (Abs.amostra - Abs.branco)] \times 100}{Abs.contrôle}$$

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA

As linhagens bacterianas utilizadas foram as Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922), *S. aureus* (358), *Streptococcus mutans* (ATCC 20446), e a Gram-negativa: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *E. coli* 27. Além do fungo de importância clínica *Candida albicans* (ATCC 40006) e *Candida albicans* 62.

As bactérias e fungos fazem parte do banco de microrganismos da Faculdade Leão Sampaio e Universidade Regional do Cariri que foram inoculadas em BHI (*Brain Heart Infusion Broth*) e *sabouraud* (HARLEY & PRESCOTT, 1996) e mantidas em estufa bacteriológica a 37°C/24h.

As atividades antimicrobianas do extrato foram avaliadas pela metodologia de microdiluição em caldo, com base no documento M7-A6 (WAYNE, 2008) para bactérias e fungos. Previamente, as cepas bacterianas e fúngicas foram ativadas em meios *Brain Heart Infusion Broth* (BHI) e *sabouraud*, respectivamente, durante 24 h a



35 ± 2 °C. Após este pré-cultivo ocorreu à padronização do inóculo, que consistiu na preparação de uma suspensão bacteriana e fúngica em BHI e *sabouraud* a 3,8%, com turvação correspondente a 0,5 da Escala McFarland (1 x 10⁸ UFC/mL). Em seguida essa suspensão foi diluída até 1 x 10⁶ UFC/ mL em caldo BHI a 10%, e volumes de 100 µL serão então homogeneizados em placa de microdiluição com 96 poços, acrescido de diferentes concentrações do extrato, resultando num inóculo final de 5 x 10⁵ UFC/mL (WAYNE, 2008).

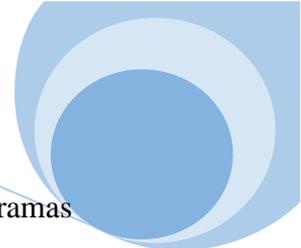
O extrato foi solubilizado inicialmente em água destilada e dimetil-sulfóxido (DMSO) de forma que foi obtida a solução estoque de 1024 µg/mL. Os testes foram efetuados em triplicata. As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C durante 24 h. Para revelação dos resultados, foi preparada uma solução indicadora de resazurina sódica em água destilada na concentração de 0,01%. Após a incubação, 25 µL da solução indicadora foram adicionados em cada cavidade e as placas serão incubadas por 1 h em temperatura ambiente. Sendo assim, semelhante para determinação da concentração inibitória mínima para fungos também, porém é avaliado pelo o nível de turbidez. O controle negativo do teste é realizado com o caldo BHI (SALVAT *et al.*, 2001).

A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração capaz de inibir completamente o crescimento microbiano, nos poços de microdiluição conforme detectado a olho nu. A leitura dos resultados para determinação da CIM foi considerada como positiva para os poços que permaneceram com a coloração azul e negativa os que obtiveram coloração vermelha (SALVAT *et al.*, 2001).

ATIVIDADE MODULADORA

A modulação foi realizada de acordo com a metodologia descrita no teste de microdiluição com BHI a 10%. Foram acrescidos juntamente com as bactérias, antibióticos da classe dos aminoglicosídeos e betalactâmicos. O teste foi acompanhado de um controle positivo que consistiu na solução de microrganismos e dos seguintes antibióticos: amicacina, gentamicina, amoxicilina e ampicilina e os antifúngicos: cetaconazol e fluconazol. (SAGDIÇ, 2005).

TABULAÇÃO DOS DADOS



As análises estatísticas dos resultados foram realizadas utilizando os programas ANOVA e *Graph Pad Prism* 6.0, seguido do teste de *Student-Newman-Keuls* ou *Tukey*, por comparação múltipla quando apropriado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da prospecção química do extrato etanólico de *C. frutescens* foi possível identificar de forma qualitativa, a presença de classes de metabólitos secundários como: flavonóides, taninos e alcalóides (Tabela 1), constituintes que possuem uma ampla variedade de atividades biológicas como: antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória (LOPES *et al.*, 2000).

Em estudo realizado por Monteiro *et al.*, (2005), verificou-se que uma série de bactérias de interesse clínico, são sensíveis aos taninos, dentre elas *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoneae*, *Bacillus anthracis* e *Shigella dysenteriae*.

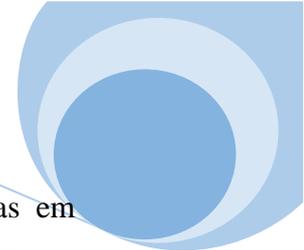
Tabela 1. Prospecção química do extrato etanólico de *C. frutescens*.

	Classe de metabólitos									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Presença	x		x	x	X	X		x	X	x
Ausência		x					x			

Legenda: 1-Taninos flobabênicos; 2 -Taninos pirogálicos; 3 - Alcalóides; 4 - Flavonas; 5- Flavonois; 6 - Flavanonas; 7 - Antocianina e Antocianidina; 8 - Xantonas; 9 - Leucoantocianidina; 10 - catequinas.

O teor de ácido ascórbico obtido para a pimenta *in natura* foi de 263,5 mg/100g. Quando comparado com a literatura, este valor encontra-se dentro do intervalo citado por Howard *et al.*, (1994), que apresentaram resultados variando entre 75-277 mg/100g de vitamina C em amostras de pimenta malagueta.

Castro *et al.*, (2008), verificaram 107,4 mg/100g, enquanto Rebouças; Valverde & Teixeira (2013), encontraram 121,5 mg/100g em estudo realizado no interior da Bahia. Tamaña variação de resultados pode ser atribuída a diversos fatores interferentes no conteúdo de vitamina C das pimentas como: as variações nas cultivares, genética, maturidade, fertilização, condições ambientais e processamento (OLIVEIRA, 2011).



Ao comparar o resultado encontrado com frutas reconhecidamente ricas em vitamina C, como acerola e caju, que apresentam respectivamente 941,4 mg/100 g e 219,3 mg/100 g, valores estes descritos na Tabela de Composição Química de Alimentos, TACO (UNICAMP, 2011), observou-se que a espécie estudada se trata de uma importante fonte de vitamina C.

O resultado obtido na determinação dos fenóis totais pelo método Folin-Ciocalteu, foi de $32,43 \pm 0,14$ mg de EAG/g. O trabalho de Freire *et al.*, (2013) realizado no Rio Grande do Norte apresentou o valor de 45,48 mg de EAG/g para o extrato etanólico do fruto de *C. frutescens*. De acordo com Oliveira (2011), em pesquisa realizada no estado do Piauí, o teor de fenóis encontrado para o extrato alcoólico de *C. frutescens* foi de $16,85 \pm 0,89$ mg de EAG/g e quando somados os teores de fenólicos totais obtido pelos três extratos testados (etéreo, alcoólico e aquoso), observou-se que a pimenta malagueta aparece com 55,8 mg de EAG/g.

Confrontando os dados encontrados com o conteúdo de fenóis totais de frutos usualmente consumidos, como abacaxi (*Ananas sativa*), com 21,7mg/100g e maracujá (*Passiflora edulis*), com 20,0 mg/100g (KUSKOSKI *et al.*, 2005), pode-se afirmar que as pimentas são boas fontes de compostos fenólicos.

A quantidade final de fenóis totais pode ser influenciada por fatores como: a maturação, práticas de cultivo, origem geográfica, estágio de crescimento, condições de colheita e processo de armazenamento (SOARES *et al.*, 2008; VIEIRA, 2009). Além disso, a quantidade de fenóis presentes nos vegetais pode variar também de acordo com fatores que não são intrínsecos ao alimento, como radiação solar e época do ano (MACHADO *et al.*, 2008).

Diversos autores afirmam não ser uma tarefa fácil encontrar um método único que seja adequado para a análise de um grupo como os fenóis, devido à diversidade das estruturas químicas e variação de sensibilidade dos compostos às condições de extração (ROCKENBACH *et al.*, 2008).

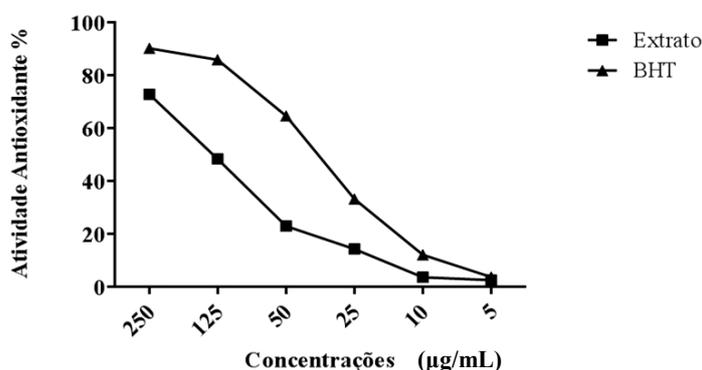
Os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante do extrato etanólico de *C. frutescens*, determinada via radical DPPH, estão representados no Gráfico 1. Foi realizado controle positivo com o BHT, padrão utilizado para a atividade antioxidante. O extrato apresentou significativa capacidade antioxidante, destacando-se as concentrações de 250 e 125 $\mu\text{g/mL}$ que apresentaram respectivamente $72,75 \pm 0,95\%$ e $48,3 \pm 0,82\%$ de atividade. O valor da CE_{50} , quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%, determinada usando-se o

programa *Graph Pad Prism* 6.0, foi de 19,48 $\mu\text{g/mL}$, valor consideravelmente menor que o da CE_{50} de 40,65 $\mu\text{g/mL}$ encontrada para o BHT.

Resultado semelhante foi descrito por Costa *et al.*, (2009) que em estudo utilizando o extrato bruto e fracionado de pimentas do gênero *Capsicum* encontraram para a pimenta malagueta uma atividade média de 79,74% na concentração de 250 $\mu\text{g/mL}$. Esta atividade pode ser atribuída ao elevado teor de vitamina C presente no fruto, assim como a presença de fenóis, cuja capacidade antioxidante é determinada por sua estrutura química, principalmente pela presença das hidroxilas que podem atuar como doares de elétrons, além de serem compostos que proporcionam a estimulação de importantes enzimas de caráter antioxidante como superóxido dismutase e catalase (BARBOSA, 2010).

A atividade antioxidante pode depender de vários fatores, incluindo a formação e estabilidade dos radicais, assim como a biodisponibilidade dos antioxidantes e as mais diversas interferências ambientais presentes em distintas fases do processamento de alimentos (ROCKENBACH *et al.*, 2008). Como descrevem Pérez-Jiménez & Saura-Calixto (2006), as diferenças observadas na atividade antioxidante, quando são utilizados diferentes solventes extratores, podem ser maiores se a amostra analisada for um alimento, visto que representa uma matriz complexa de diferentes componentes, que podem estabelecer, entre si e com os solventes, inúmeras e diferentes interações.

Gráfico 1. Atividade antioxidante (%) obtida em diversas concentrações do extrato etanólico de *C. frutescense* BHT, pelo método DPPH.

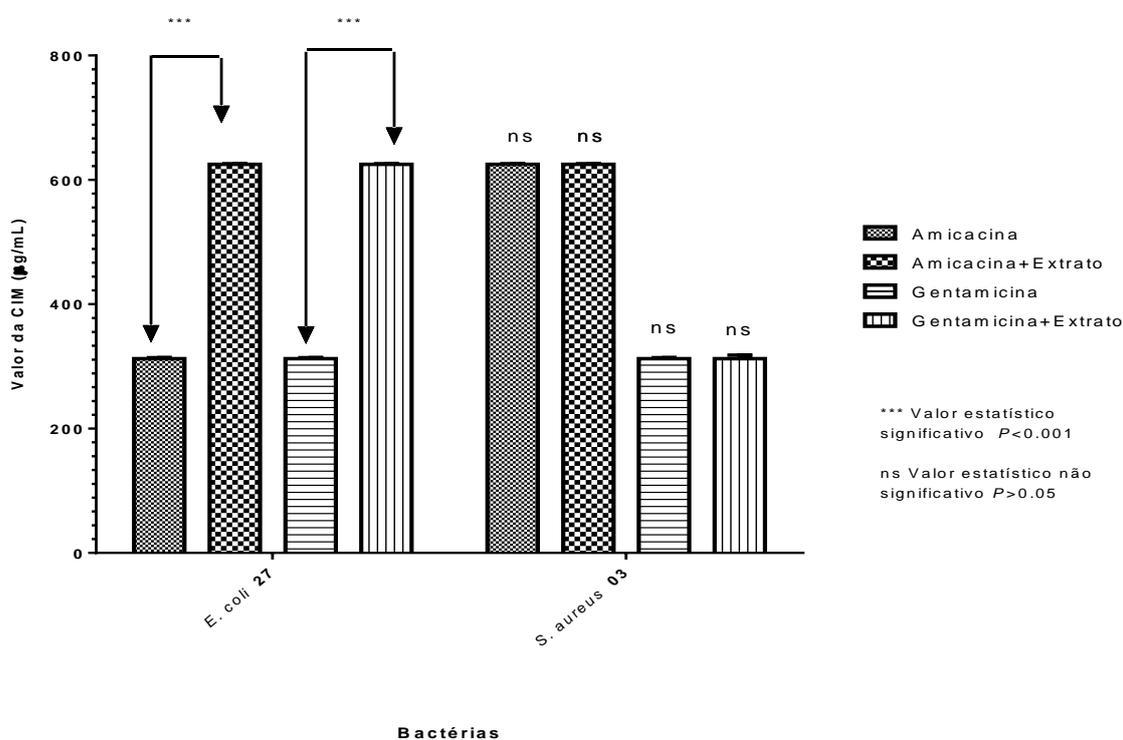


Com a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente a cepas bacterianas e fúngicas como; *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* e *Cândida albicans*, foram obtidos resultados $\geq 1024\mu\text{g/mL}$, exceto *S. aureus* que obteve concentrações de 8 $\mu\text{g/mL}$ e 64 $\mu\text{g/mL}$.



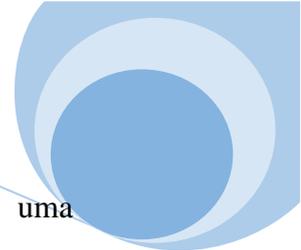
O extrato etanólico não mostrou atividade moduladora significativa quando associado com amicacina, já quando testado juntamente com gentamicina foi apresentado um sinergismo considerável frente a cepa bacteriana de *S. aureus*. (Gráfico 2). Como visto em outros estudos a resistência microbiana é reduzida a partir da modulação, pois pesquisas evidenciaram o efeito potencializador de aminoglicosídeos através de extratos (COUTINHO *et al.*, 2008; COUTINHO *et al.*, 2009).

Gráfico 2. Determinação da atividade modulatória do extrato etanólico de *Capsicum frutescens* frente os antibióticos da classe dos aminoglicosídeos.



Atividade modulatória em relação aos antifúngicos demonstrou que o extrato quando combinado com o cetoconazol sofreu um sinergismo mais relevante do que com fluconazol. Quanto aos antibióticos betalactâmicos, foi visto também um sinergismo frente aos microrganismos multirresistentes, sendo que os resultados demonstraram uma maior atividade quando associado com ampicilina, reduzindo a concentração inibitória mínima das mesmas, onde foi possível ver uma ação relevante frente à cepa de *S. aureus* 358.

O fato dos antibióticos terem atuado melhor em *Staphylococcus aureus* é que há uma diferença entre as membranas bacterianas de uma Gram-positiva e Gram –negativa. Dessa forma foi possível ver que mesmo com a modulação a *E. coli* foi resistente frente



aos betalactâmicos pelo fator de que as bactérias Gram-negativas possuem uma membrana externa rica em lipopolissacarídeos e fosfolipídios, atuando como uma barreira de permeabilidade e quando os antimicrobianos penetram é porque agem como desestabilizadores da membrana e atravessam assim as porinas (HANCOCK, 1997; NIKAIDO, 2003; CARVALHO; SILVA & MATIAS, 2014).

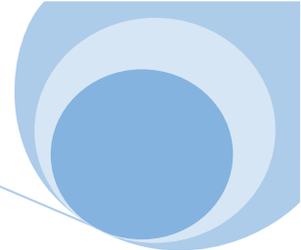
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste trabalho demonstram que a espécie estudada apresenta importantes classes de metabólitos secundários relacionadas com diversas atividades biológicas, além de constituir-se em significativa fonte de vitamina C e fenóis.

Considerando-se o teste com radical DPPH, verificou-se que *C. frutescens* demonstra potencial para ser utilizada como agente antioxidante natural, e dessa forma quando associada a uma dieta saudável contribuir na redução de risco de surgimento de doenças crônicas não transmissíveis e na manutenção da saúde.

O extrato etanólico quando associado aos antibióticos, principalmente a gentamicina, apresentou redução considerável da CIM (concentração inibitória mínima). Quanto ao fungo testado teve um melhor resultado quando associado com cetaconazol. Dessa forma, a espécie de *Capsicum frutescens*, mostrou ser promissora, favorecendo assim o combate de microrganismos patogênicos, devido ação dos metabólitos e suas atividades biológicas encontrados no estudo.

A realização desta pesquisa também contribuiu para a divulgação de conhecimentos multidisciplinares e valorização do fruto de *C. frutescens* proveniente da região do Cariri Cearense.



5. REFERÊNCIAS

AOAC. American Oil Chemists' Society. Official methods and recommended practices of the AOCS, ed. 4th, Champaign, 1984.

BARBOSA M. M. Obtenção de carotenóides e flavonóides a partir do bagaço do pedúnculo do caju por maceração enzimática. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

BRAND-WILLIAMS W.; CUVELIER M. E.; BERSET C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

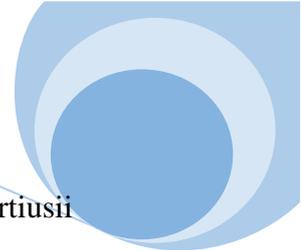
BRITO S. A.; *et al.* Prospecção fitoquímica e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade do látex de *Colotropisprocera (Asclepidaceae)*. *Cadernos de cultura e ciência*, Ano IV, v. 2, n. 2, p. 31-39, 2010.

CARVALHO S. I. C.; *et al.* Pimentas do gênero *Capsicum* no Brasil, Brasília: Embrapa Hortaliças, 2006.

CARVALHO V. R.; SILVA M. K. N.; MATIAS E. F. F. Avaliação da atividade antibacteriana, moduladora e caracterização fitoquímica das frações acetato de etilo obtidas dos extratos das folhas de *Cordiaverbenacea DC.* CONACIS. I Congresso Nacional de Ciências da Saúde, v. 1, 2014.

CASTRO S. M.; *et al.* Effect of thermal blanching and of high pressure treatments on sweet green and red bell pepper fruits (*Capsicum annuum L.*). *Food chemistry*, v. 107, n. 4, p. 1436-1449, 2008.

COSTA L. M.; *et al.* Atividade antioxidante de pimentas do gênero *Capsicum*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 30, P. 51-59, 2009.



COUTINHO H. D. M.; *et al.* In vitro anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA strains. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, p. 670-675, 2008.

COUTINHO H. D. M.; *et al.* In vitro phototoxic activity of *Eugenia jambolana* L. and *Hyptismartiusii* Benth. *Journal Photochemistry Photobiology and Biology*, v. 96, n. 1, p. 63-65, 2009.

FREIRE L. C. C.; *et al.* Avaliação do teor de fenóis e atividade antioxidante de *Capsicum frutescens* L. In: Congresso de Iniciação Científica do IFRN, 9. Rio Grande do Norte, 2013.

HANCOCK R. E. W. The bacterial outer membrane as a drug barrier. *Trends microbiology*, v.5, n. 1. p 37-42, 1997.

HARLEY J. P.; PRESCOTT L. M. Laboratory exercises in microbiology. WCB publishers, v. 3, p. 23-56, 1996.

HOWARD L. R.; *et al.* Provitamin A and ascorbic acid content of fresh pepper cultivars (*Capsicum annuum*) and processed jalapenos. *Journal of Food Science*, v. 59, n. 2, p. 362-365, 1994.

IHA S. M.; *et al.* Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 3, p. 387-393, 2008.

KUSKOSKI E. M.; *et al.* Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

LOPES R. M.; *et al.* Flavonóides: farmacologia de flavonóides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, v. 3, 2000.



MACHADO H.; *et al.* Flavonóides e seu potencial terapêutico. Boletim do Centro de Biologia da Reprodução, v. 27, n. 1/2, 2008.

MATOS F. J. A. Introdução à fitoquímica experimental. Fortaleza. Editora: UFC, v. 2, 1997.

MENSOR L. L.; *et al.* Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. Phytotherapy research, v. 15, n. 2, p. 127-130, 2001.

MONTEIRO J. M.; *et al.* Taninos: uma abordagem da química à ecologia. Química Nova, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

NIKAIDO H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. Microbiology and Molecular Biology Reviews, v. 67, n. 4, p. 593- 656, 2003.

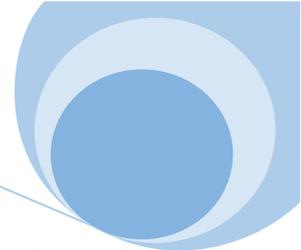
NIKI E. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. Free Radical Biology and Medicine, v. 49, n. 4, p. 503-515, 2010.

OLIVEIRA A. M. C. Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e atividade antifúngica de pimentas do gênero *Capsicum spp.* Dissertação (Mestrado) – Programa de pós-graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Piauí, 2011.

PÉREZ-JIMÉNEZ J.; SAURA-CALIXTO F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. Food Research International, v. 39, n. 7, p.791-800, 2006.

RATNAM D. ; *et al.* Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. Journal of Controlled Release, v. 113, n. 3, p. 189-207, 2006.

REBOUÇAS T. N. H.; VALVERDE R. M. V.; TEIXEIRA H. L. Bromatologia da pimenta malagueta *in natura* e processada em conserva. Horticultura Brasileira, v.31, n. 1, p. 163-165, 2013.



REIFSCHNEIDER F. J. B. *Capsicum*: pimentas e pimentões no Brasil. Brasília: Embrapa comunicação para transferência de tecnologia/Embrapa hortaliças, 2000.

ROCKENBACH I. I.; *et al.* Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. *Food Science and Technology*, v. 28, p. 238-244, 2008.

ROMAN A. L. C.; *et al.* Uso medicinal da pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) em uma comunidade de várzea à margem do rio Amazonas, Santarém, Pará, Brasil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas*, v. 6, n. 3, p. 543-557, 2011.

SAGDIÇ O. Sensitivity of four pathogens pathogenic bacteria to *Turkish thyme* and *Oregano hydrossols*. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, v. 36, p. 467-473, 2005.

SALVAT A.; *et al.* Screening of some plants from North Argentin for their antimicrobial activity. *Letters in Applied Microbiology*, v. 32, n. 5, p.293-297, 2001.

SANTOS J. A. B.; SILVA G. F.; OLIVEIRA L. C. Avaliação dos capsaicinóides em pimentas malagueta. *Revista Eletrônica da Faculdade José Augusto Vieira-FJAV. Ano I, n. 2, p. 1983-1285, 2008.*

SINGLETON V. L.; ORTHOFER, R.; LAMMELA-RANVENSON, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods of Enzymology*, v. 299, p. 152-178, 1999.

SOARES M.; *et al.* Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 30, n. 1, p. 59-64, 2008.

THUNHEER T.; GMU R.; GUGGENHEIM B. Multiplex Fish analysis of a six-species bacterial biofilm. *Journal of Microbiological Methods*, v. 56, p. 37-47, 2004.

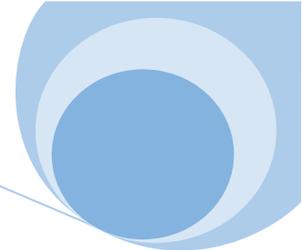


UNICAMP - UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos: TACO. 2 ed. Campinas, 2011.

UZÊDA M. M. Microbiologia oral. Editora Médica e científica LTDA, p. 104, 2002.

VIEIRA L. M. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de polpas de frutos tropicais. Monografia (obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos) Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI. Curso de graduação em Tecnologia de alimentos. Teresina, PI, 2009.

WAYNE P. Clinical and Laboratory Standards Institute: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard. CLSI document M27-A3 and Supplement S, v. 3, p. 6-12, 2008.



Capítulo 27

ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS BROMATOLÓGICAS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DAS FOLHAS DE *Moringa oleífera* Lam. (MORINGACEAE)

Maria IM Dos Santos¹, Luciane V Santos², Raul S Andreza³, Fabíola FG Rodrigues⁴

¹Biomédica –Centro Universitário Doutor Leão Sampaio (UNILEÃO) -Juazeiro do Norte/CE.

²Biomédica, Mestranda em Bioquímica e Fisiologia – Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) –Recife/PE.

³Biomédico, Docente da Faculdade de Ciências Médicas Aggeu Magalhães (FAMA) e Faculdade de Ciências Exatas e Humanas do Sertão do São Francisco (FACESF) – Salgueiro/PE.

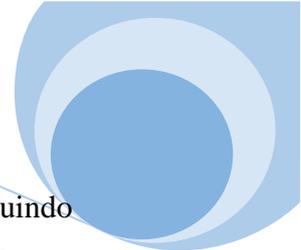
⁴Docente orientadora do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio (UNILEÃO), Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN) – Universidade Regional do Cariri (URCA), Crato/CE.

1. INTRODUÇÃO

Moringa oleífera Lam. é uma espécie pertencente da família Moringaceae. É uma árvore oriunda da Índia, embora seja um vegetal cultivado em todos os trópicos. Trata-se de uma planta de crescimento relativamente rápido, fácil adaptação a certas condições climáticas e que se desenvolve bem mesmo em solos desprovidos de nutrientes (WARHURST; MCCONHACHIE & POLLARD, 1996).

Dependendo da região que se encontra *Moringa oleífera* recebe diferentes nomes como lírio branco ou quiabo de quina. No Brasil, a espécie foi adaptada por volta 1950 como planta ornamental e deste então vem sendo difundida. Caracteriza-se como uma planta de multifuncionalidade, porque toda ou qualquer parte dela é utilizada, para algum aproveitamento seja alimentos, medicamentos ou para fins industriais (TSAKNIS *et al.*, 1999; FAHEY, 2005).

Dentre suas múltiplas funcionalidades, a espécie é utilizada na purificação da água, esta sobressai por possuir na sua composição um coagulante ativo que atua na clarificação de água barrenta. Essa espécie apresenta um alto valor nutricional em



relação a suas folhas e por apresentar proteínas, vitaminas, minerais e fenóis. Possuindo propriedades antimicrobiana, antioxidante, floculação e anti-inflamatória (OKUDA *et al.*, 2001; RANGEL, 2007).

Radicais livres são moléculas instáveis e que apresentam um elétron que tende a se associar de maneira rápida a outras moléculas de carga positiva com as quais pode reagir ou oxidar. No nosso organismo, pois radicais de oxigênio possui um papel muito importante nas reações bioquímicas e fisiológicas no corpo humano, pois houve uma produção excessiva desses radicais e não haver antioxidante *in vivo*, pode levar a correr doenças e danos nos tecidos (MOLYNEUX *et al.*, 2004).

Os fenóis são potentes antioxidantes e os antioxidantes naturais estão presentes em vegetais, sendo que alguns vão apresentar uma maior concentração em grupos (RICE-EVANS; MILLER & PAGANGA, 1996).

A importância dessa pesquisa se dá pela vasta presença de nutrientes e composto nutricionais que essa planta favorece na digestão do funcionamento fisiológico do ser humano. Dessa forma, o estudo objetivou analisar as características bromatológicas e o potencial antioxidante das folhas de *Moringa oleífera* Lam.

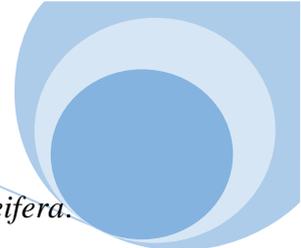
2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. COLETA, IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA E OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO

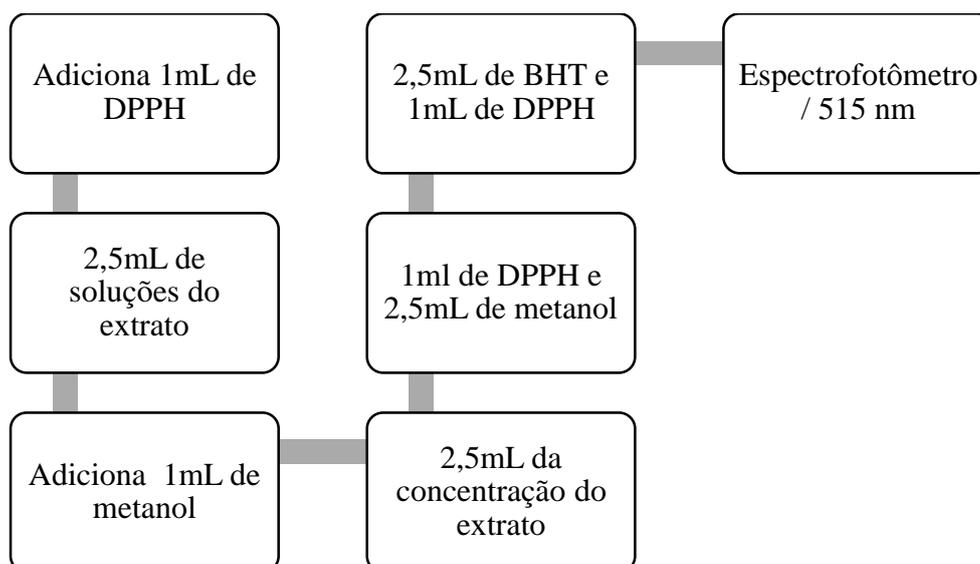
Foram utilizadas folhas 500g da *Moringa oleífera*, obtidas na Faculdade Leão Sampaio da cidade de Juazeiro do Norte – CE, no período de 28 de Julho a 04 de Agosto de 2015. Um exemplar da planta foi depositado no Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima da Universidade Regional do Cariri (URCA) para identificação. Para obtenção do extrato etanólico das folhas de *Moringa oleífera* (EEMO) foi utilizado 500g das folhas da planta, que foram submetidas à extração a frio com solvente orgânico, segundo metodologia de Matos *et al.*, (1997).

2.2. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (VIA RADICAL DPPH)

As amostras para a realização do ensaio foram preparadas segundo a metodologia de Mensor *et al.*, (2001). Como segue ilustrado no Fluxograma 1, sendo realizados os controles positivos e negativos do teste.



Fluxograma 1. Determinação da atividade antioxidante das Folhas de *Moringa Oleífera*.



$$%AA = \frac{[Abs. controle - (Abs. amostra - Abs. branco)] \times 100}{Abs. controle}$$

2.3. DETERMINAÇÃO DOS ASPECTOS BROMATOLÓGICOS E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Para as análises físico-químicas da folha da *Moringa oleífera* foram feitas as seguintes avaliações: pH e acidez titulável, segundo as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2008).

2.4. UMIDADE E CINZAS

A determinação de umidade foi através do aquecimento em estufa a 105°C durante 24 horas. Para determinar as cinzas foram pesados e carbonizados em mufla a 550°C, resfriou-a em dessecador até a temperatura ambiente e foi pesada. As operações de aquecimento e resfriamento foram repetidas até as amostras alcançarem peso constante.

2.5. LIPÍDEOS, PROTEÍNAS E CARBOIDRATOS

A determinação de lipídeos foi através do método *Soxhlet*. As proteínas foram utilizadas um processo de *Kjeldahle* as determinações dos carboidratos foram calculadas



por diferencial, segundo as normas técnicas da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após as análises bromatológicas foi determinado elevado teor umidade (50,32%), seguido de proteínas (30,08%) e carboidratos (8,22%) além das características físico-químicas como que apresentaram valores pH (6,45) e acidez (5,48) (Tabela 1).

Tabela 1. Determinação da composição bromatológica das folhas de *Moringa oleífera*.

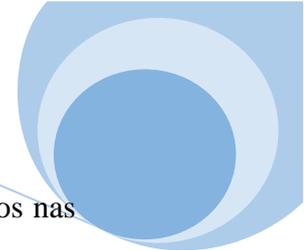
Parâmetros %	
Cinzas	4,57
Carboidratos	8,22
Lipídeos	6,81
Proteína	30,08
Umidade	50,32

Fonte: Dados da pesquisa.

Moringa oleífera possui diversos subprodutos como folhas, raízes, sementes e vagens, utilizados em inúmeros setores industriais, e.g. farmacêutica e alimentícia. Sendo assim, as vagens e as folhas são usadas na culinária para produção de uma farinha rica em fibras, carboidratos e minerais. Portanto demonstra a relevância da pesquisa realizada (PEREIRA, 2011).

Segundo os estudos com as sementes de moringa relatados por Gallão; Damasceno & Brito, (2006), mostrou-se um percentual baixo no teor de umidade, ocorrência esse que se explica pelo fato a parte utilizada na pesquisa que são as sementes, pois as mesmas encontram-se mais secas do que folhas.

As proteínas nessa espécie são encontradas em maior quantidade, esses altos teores proteicos nas sementes de moringa são de maior de interesse no processo de clarificação da água, favorecendo também no processo de floculação das águas (NDABIGENGESERE; NARASIAH & TALBOT, 1995).



Segundo Siguemotto (2013), foi observado um considerável teor de lipídeos nas sementes da moringa aproximadamente (19%), enquanto no presente estudo com as folhas mostraram um percentual de (6,81%) de lipídeos.

As folhas de *M. oleifera* são ricas em beta-caroteno, proteínas, cálcio, vitamina c e potássio (SIDDHURAJU & BECKER, 2003; IQBAL & BHANGER, 2006; ANWAR *et al.*, 2007). O que justifica o alto teor de proteínas nas análises bromatológicas, comprovando também por Pereira (2011).

A sazonalidade é um fator relatado por Shih *et al.*, (2011), que interferem na composição dos nutrientes das folhas da moringa oleífera, conseqüentemente nas análises de seus subprodutos, por exemplo as condições climáticas e o índice pluviométrico.

Tratando-se das análises realizadas por Moyo *et al.*, (2011), as coletas das folhas feitas no período do inverno e verão proporcionaram um elevado percentual de proteínas (30,03%), percentual este que corrobora com a pesquisa presente que apresentou também (30,08%) de proteínas.

Price (2000) relata uma análise dos subprodutos da moringa sendo assim avaliados os teores presentes nas vagens, folhas e pó das folhas demonstrando assim altas concentrações de proteínas e carboidratos de acordo as partes analisadas. Estudo este, que também corrobora com o trabalho desenvolvido para os valores de umidade nas folhas quando se trata dos valores pelo o mesmo testado obtendo-se (75%) e enquanto o presente estudo observou-se (50,32%) valor relativamente próximo. Quanto aos valores de carboidratos Price (2000), relata para as folhas (13,4%)mostrando uma leve significância com estudo realizado.

Em relação às características físico-químicas, como pH e acidez demonstrou uma leve significância e proximidade nos resultados com os expostos por Passos *et al.*, (2013), em que apresentou (8,68) para acidez e pH (5,80) e os atuais resultados demonstraram (5,48) e (6,45), respectivamente, quando se trata dos valores das folhas *in natura*, pois o mesmo trabalhou com análises de folhas e sementes secas e *in natura* da espécie em estudo.

Em relação à atividade antioxidante foi possível perceber que o EEMO foi comparado com o controle positivo realizado com BHT, utilizado como padrão de Mensor *et al.*, (2001).



Tabela 2. Análise do potencial antioxidante *in vitro* das folhas de *Moringa oleifera* (Via de radical DPPH).

mg/mL	EEMO(AA%)	BHT
10	74,30	10,52
25	102,64	31,82
50	129,46	60,12
125	151,85	88,03
250	250,00	91,25

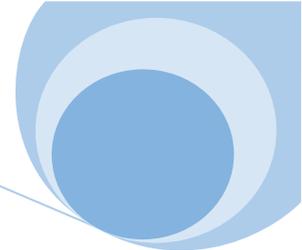
Fonte: Dados da pesquisa. EEMO = Extrato Etanólico das Folhas de *Moringa Oleifera*.

Os resultados apresentados acima foram bastante superiores ao do BHT. De forma geral os resultados foram diferentes quando comparados a outros estudos da espécie. Ao ser avaliado o potencial antioxidante *in vitro*, por sequestro de DPPH, essa atividade segundo Zhang *et al.*, (2010) está associada a presença da classe flavanóides e isoflavanóides. As propriedades antioxidantes têm ação de redução na ocorrência de doenças degenerativas (GONZALO & ALONSO, 2002).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos da caracterização da *Moringa oleifera* Lam, notou-se que os componentes presentes na moringa em maior quantidade foram umidade (50,32%),seguido de proteínas (30,08%) e carboidratos (8,22%).Para isso torna-se necessário dá continuidade aos estudos quantitativos dos micronutrientes e macronutrientes da *Moringa oleifera* para assim avaliar a sua diversidade de atividades biológicas e importância nutricional e bromatológica da espécie que favorece na digestão do funcionamento fisiológico, pela vasta presença de compostos nutricionais.

Portanto, o estudo buscou novas informações sobre o potencial das folhas de Moringa. Quanto às propriedades antioxidantes determinou-se o potencial da planta associada presença de metabólitos secundários, reduzindo assim os radicais livres.



5. REFERÊNCIAS

ANWAR F.; *et al.* Moringa oleifera: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, v. 21, n. 1, p. 17-25, 2007.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Métodos físicos-químicos para análise de alimentos. São Paulo, SP, v. 4, 2008.

FAHEY J. W. Moringa oleifera: a review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1. *Trees for life Journal*, v. 1, n. 5, p. 1-15, 2005.

GALLÃO A. I.; DAMASCENO L. F.; BRITO E. S. Avaliação química e estrutural da semente de moringa. *Revista Ciências Agronômica*, v. 37, n. 1, 2006.

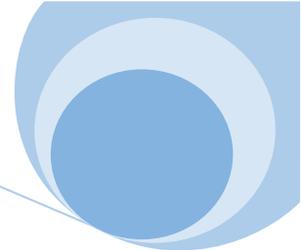
GONZALO J. C. R.; ALONSO M. G. Flavonoides en alimentos vegetales: estructura y actividad antioxidante. *Alimentación Nutrición y Salud*, v. 9, n. 2, p. 31-38, 2002.

IQBAL S.; BHANGER M. I. Effect of season and production location on antioxidant activity of Moringa oleifera leaves grown in Pakistan. *Journal of food composition and analysis*, v. 19, n. 6-7, p. 544-551, 2006.

MATOS F. J.; *et al.* Introdução a fitoquímica experimental. Edições UFC, v.1, n. 2. 1997.

MENSOR L. L.; *et al.* Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy research*, v. 15, n. 2, p. 127-130, 2001.

MOLYNEUX P.; *et al.* The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, v. 26, n. 2, p. 211-219, 2004.



MOYO B.; *et al.* Nutritional characterization of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *African Journal of Biotechnology*, v. 10, n. 60, p. 12925-12933, 2011.

NDABIGENGESERE A.; NARASIAH K. S.; TALBOT B. G. Agentes ativos e mecanismo de coagulação de águas turvas usando *Moringa oleifera*. *Water Research*, v. 29, n. 2, p. 703-710, 1995.

OKUDA T.; *et al.* Isolation and characterization of coagulant extracted from *Moringa oleifera* seed by salt solution. *Water Research*, v. 35, n. 2, p. 405-410, 2001.

PASSOS M.; *et al.* Qualidade pós-colheita da moringa (*Moringa oleifera* lam) utilizada na forma in natura e seca. *Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias*, v. 3, n. 1, p. 113-120, 2013.

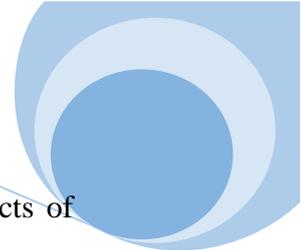
PEREIRA D. F. Potencialidades da moringa oleífera Lam na produção de biodiesel e no tratamento de água produzida na extração de petróleo. Dissertação (Mestrado em engenharia química), Universidade Federal de Sergipe, SE. 2011.

PRICE M. L. *The moringa tree*. Myers, FL: Echo Technical, v. 1, n. 1, 2000.

RANGEL M. S. *Moringa oleifera*: um purificador natural de água e complemento alimentar para o nordeste do Brasil. 2007. Disponível em: <http://www.jardimdeflores.com.br/floresefolhas/A10moringa.htm>. Acesso em: 1 de março de 2015 às 17:00.

RICE-EVANS C. A.; MILLER N. J.; PAGANGA G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

SHIH M. C.; *et al.* Effect of different parts (leaf, stem and stalk) and seasons (summer and winter) on the chemical compositions and antioxidant activity of *Moringa oleifera*. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 12, n. 9, p. 6077-6088, 2011.



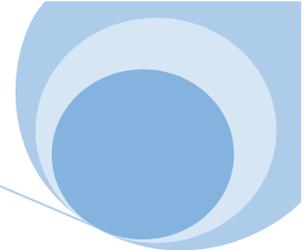
SIDDHURAJU P.; BECKER K. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, n. 8, p. 2144-2155, 2003.

SIGUEMOTO E. S. Composição nutricional e propriedades funcionais do murici (*Byrsonima crassifolia*) e da moringa (*Moringa oleifera*). Dissertação (Mestrado em ciências), Universidade de São Paulo, SP. 2013.

TSAKNIS J.; *et al.* Characterization of *Moringa oleifera* variety Mbololo seed oil of Kenya. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 47, n. 11, p. 4495-4499, 1999.

WARHURST A. M.; MCCONNACHIE G. L.; POLLARD S. J. T. The production of activated carbon for water treatment in Malawi from the waste seed husks of *Moringa oleifera*. *Water Science and Technology*, v. 34, n. 11, p. 177-184, 1996.

ZHANG D. Y.; *et al.* Negative pressure cavitation extraction and antioxidant activity of genistein and genistin from the roots of pigeon pea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.]. *Separation and Purification Technology*, v. 74, n. 2, p. 261-270, 2010.



Capítulo 28

ESTUDO DA SÍFILIS GESTACIONAL NO ESTADO DO PARÁ NO PERÍODO DE 2009 A 2018

Lyzandra PM Santos¹, Rafaela M Ribeiro², Larissa do SS Bastos³, Tinara LS Aarão⁴, Lucas A Ferreira⁵

¹Farmacêutica, Residente em Atenção Integral à Saúde pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto/SP.

²Farmacêutica, Pós-Graduação em Farmácia Hospitalar pelo Instituto Cultus, Cerquilha/SP.

³Acadêmica de Biomedicina, Universidade da Amazônia, Ananindeua/PA.

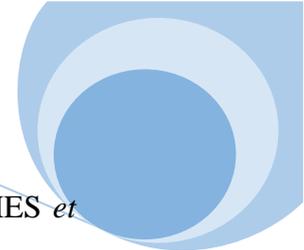
⁴Biomédica, Doutora em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários da Universidade Federal do Pará, Belém/PA.

⁵Biomédico, Mestrando do Programa de Pós-graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários pela Universidade Federal do Pará, Belém/PA.

1. INTRODUÇÃO

A palavra Sífilis originou-se de um poema escrito por volta de 1530 pelo médico Girolamo Frascatoro, no qual contava a história de Syphilus, um pastor que não realizava sacrifícios ao Deus Sol Apolo e por conta disto acabou punido com a doença. Todavia, os relatos sobre a patologia são muito anteriores ao poema que a designou, sendo considerada uma doença de 500 anos antes de sua identificação. Sua história com a humanidade é ainda controversa, existindo duas teorias para sua derradeira origem (RAMOS-FILHO & MAY, 1998; SILVA & SANNA, 2016).

A alta incidência de Sífilis no Brasil é um problema de Saúde Pública, tendo em vista que desde 1950 são oferecidos métodos de diagnóstico de baixo custo, tratamento eficaz e acessível para a população. O seu agente etiológico, o *Treponema pallidum*, possui uma taxa de transmissão maior que o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) tornando-o assim determinante nas elevadas taxas de morbimortalidade perinatal e maternasendo considerada ainda a terceira patologia bacteriana de transmissão sexual,



devido o número de casos (GARCÍA-RODRIGUEZ & PICAZO, 2010; MATTHES *et al.*, 2012; CAVALCANTE; PEREIRA & CASTRO, 2017).

Em 1993 o Ministério da Saúde do Brasil (MS) lançou o projeto de eliminação da Sífilis Congênita em concomitância com a proposta de controle do agravo nas Américas, desenvolvida pela Organização Pan-Americana de Saúde e Organização Mundial de Saúde (OMS), a mesma declarou em 2011 que a estimativa dos novos casos de Sífilis em gestantes por ano seria de 2 milhões, sendo que 25% resultariam em abortos espontâneos ou natimortos por não serem tratados ou ainda tratados inadequadamente (MAGALHÃES *et al.*, 2011; CAVALCANTE, PEREIRA & CASTRO, 2017).

Muitos fatores podem contribuir para a infecção do *T. pallidum*, sendo alguns dos principais a infecção pelo HIV, múltiplos parceiros, abuso de drogas, histórico de infecções sexualmente transmissíveis (IST), histórico de Sífilis em gestações anteriores, baixa renda, baixa escolaridade, gestação na adolescência e subutilização do sistema de saúde pública. Além do que, ela possui duas fases a assintomática e latente, o que acarreta em uma variedade de sinais e sintomas, podendo levar a equívocos no diagnóstico (PINTO *et al.*, 2014).

A Sífilis Gestacional (SG) é uma patologia totalmente evitável, através da parceria entre o serviço de saúde e a população, onde o diagnóstico precoce é fundamental para um tratamento mais eficaz. Além do que, um dos principais fatores que favorecem a ocorrência da doença em gestantes em qualquer período gestacional, é a ausência ou a baixa qualidade da assistência pré-natal, pois muitas gestantes não realizam o teste para sífilis, e as que o fazem nem sem recebem o tratamento ou o recebem de forma inadequada (PADOVANI; OLIVEIRA & PELLOSO, 2018).

A notificação de Sífilis em gestante foi instituída por meio da Portaria nº 33, de 14 de julho de 2005, devendo ser reportados ao Sistema de Informações de Agravos de Notificação (SINAN). A inclusão da IST na gestação como infecção de notificação compulsória deve-se por sua elevada taxa de prevalência e transmissão vertical, variando de 30 a 100% sem o tratamento ou com tratamento inadequado (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

A definição de caso de Sífilis em gestantes para fins de vigilância epidemiológica caracteriza-se pela gestante que durante o pré-natal apresente evidência clínica e/ou sorologia não treponêmica reagente, com teste treponêmico positivo ou não realizado. Esta vigilância tem como objetivo controlar a transmissão vertical do *T.*



pallidum, acompanhar adequadamente o comportamento da infecção nas gestantes para planejamento e avaliação das medidas de tratamento, prevenção e controle (MAGALHÃES *et al.*, 2011).

Mesmo com a iniciativa de muitos órgãos de saúde como a OMS de diminuir e eliminar a transmissão da Sífilis, o que se tem visto nos últimos anos é justamente o contrário, com o aumento da infecção principalmente durante o período gestacional. Além do mais, existem poucos estudos brasileiros que investigaram a Sífilis na gestação associando com outros fatores para assim entender o panorama dos casos, sendo trabalhos desse tipo ausente em algumas regiões do Brasil (PADOVANI; OLIVEIRA & PELLOSO, 2018).

O diagnóstico e tratamento da Sífilis Gestacional são cruciais para a interrupção da cadeia de transmissão da doença ao Recém-Nascido (RN), pois, uma vez tratada da maneira correta ainda durante a gestação, as chances de transmissão vertical da doença diminuem consideravelmente, fato que comprova a necessidade de estudar a epidemiologia da SG de maneira mais intensa. Além do que, a subnotificação de casos de SG pode constituir fator de agravo e sequelas para o RN, com consequentes problemas de saúde pública (MARQUES *et al.*, 2018).

O controle efetivo da sífilis tem como princípio a triagem sorológica e o tratamento adequado tanto para as próprias gestantes quanto para os parceiros, tendo em vista que a qualidade da assistência do pré-natal ao parto minimiza a transmissão vertical da doença. Assim, o presente estudo visou analisar a prevalência de casos confirmados notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) da sífilis em gestantes, que ocorreram nos municípios do Estado do Pará no período de 2009 a 2018.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo, quantitativo, com coleta de dados realizada no Sistema de Informação de Doenças e Agravos de Notificação de Sífilis em Gestantes, cedido pelo Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/AIDS e Hepatites Virais do Ministério da Saúde. Foram incluídos todos os casos de sífilis gestacional em habitantes do Estado do Pará registrados no SINAN no período de 2009 a 2018. As seguintes características epidemiológicas foram adotadas na análise do perfil

das gestantes incluídas no estudo: escolaridade; idade do diagnóstico; e classificação clínica da doença.

A coleta de dados foi realizada no programa computacional Microsoft Excel®, versão 2013. Nesse sistema, as variáveis do estudo foram organizadas por ano, de modo a compreender o perfil temporal das infecções e a dinâmica do processo saúde-doença no município. O mesmo foi utilizado para a elaboração de gráficos que ilustram as características a discutir neste estudo.

Por utilizar o SINAN, plataforma on-line do MS cujos dados se encontram disponíveis para livre acesso, este estudo não demandou aprovação por comitê de ética em pesquisa com seres humanos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

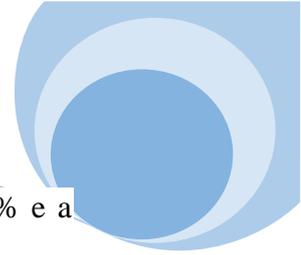
Foram contabilizados 11.914 casos de sífilis gestacional no Estado do Pará no período de 2009 a 2018 segundo ano de diagnóstico, dispostos no Gráfico 1.

Gráfico 1. Prevalência dos Casos de Sífilis Gestacional no Estado do Pará nos anos de 2009 a 2018.



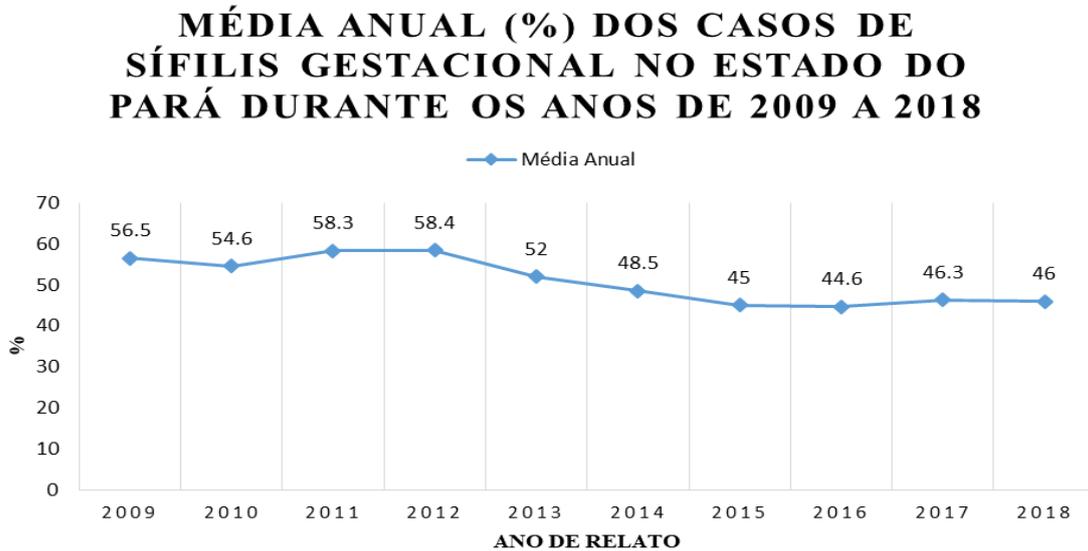
Fonte: Sistema de Informação de Doenças e Agravos de Notificação de Sífilis em Gestantes, cedido pelo Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/AIDS e Hepatites Virais do Ministério da Saúde, 2020.

Quanto a classificação clínica, a média geral dos casos do tipo primária, a qual é marcada pela presença de feridas que recebem o nome de cancro duro foi de 51,02% no



período de 2009 a 2018, tendo sido a média mínima no ano de 2016 com 44,6% e a máxima no ano de 2012 com 58,4% (Gráfico 2).

Gráfico 2. Média Anual dos Casos de Sífilis Primária no Estado do Pará entre 2009 e 2018.

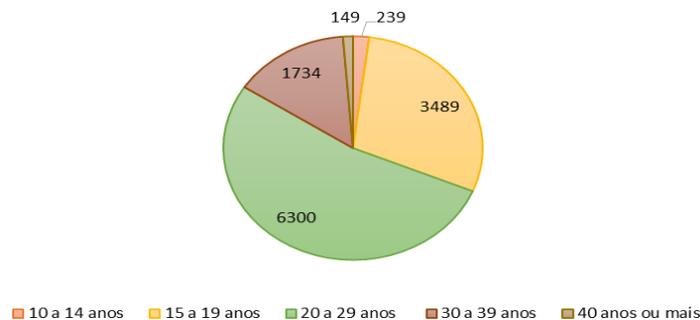


Fonte: Sistema de Informação de Doenças e Agravos de Notificação de Sífilis em Gestantes, cedido pelo Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/AIDS e Hepatites Virais do Ministério da Saúde, 2020.

A maior prevalência foi em mulheres de faixa etária de 20 a 29 anos, com registro de 6.300 (52,89%) casos (Gráfico 3).

Gráfico 3. Casos de gestantes com sífilis segundo idade do diagnóstico no Estado do Pará no período de 2009 a 2018.

CASOS DE GESTANTES COM SÍFILIS SEGUNDO IDADE DO DIAGNÓSTICO NO ESTADO DO PARÁ NO PERÍODO DE 2009 A 2018



Fonte: Sistema de Informação de Doenças e Agravos de Notificação de Sífilis em Gestantes, cedido pelo Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/AIDS e Hepatites Virais do Ministério da Saúde, 2020.



O grau de escolaridade com maior prevalência foi a 5ª e 8ª série do ensino fundamental incompleto correspondendo à 3.155 (26,48%) dos registros (Gráfico 4).

Gráfico 4. Grau de escolaridade dos casos registrados de sífilis gestacional no Estado do Pará no período de 2009 a 2018.

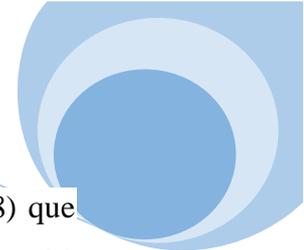


Fonte: Sistema de Informação de Doenças e Agravos de Notificação de Sífilis em Gestantes, cedido pelo Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/AIDS e Hepatites Virais do Ministério da Saúde, 2020.

Nota-se um aumento progressivo na incidência dos casos comparado ao ano inicial da pesquisa como dito também por Sequeira (2016), passando de 673 registros da doença em 2009, para 2.039 casos de sífilis em gestantes em 2018, o que corresponde ao aumento de 203% dos casos, sendo o ano de 2018 o de maior prevalência do acometimento da patologia. Porém, é válido lembrar que esse maior índice pode estar relacionado à ampliação do uso de testes rápidos em gestantes, algo cogitado também por Marques *et al.*, (2018) no seu estudo sobre Sífilis Gestacional em Sobral-CE.

Porém, ao realizar um estudo com todos os nascidos nos hospitais públicos das regiões do Peru entre 2000-2010 os autores Gonzales; Tapia & Serruya (2014) identificaram uma diminuição na prevalência dos casos de sífilis gestacional no País seguindo uma tendência decrescente.

No presente estudo a média dos casos de Sífilis Primária foram de 51,02%, resultado acima dos 36,8% encontrado por Cavalcante; Pereira & Castro (2017) em Palmas-TO entre 2007 e 2014, mas que também relatou o quadro primário da doença



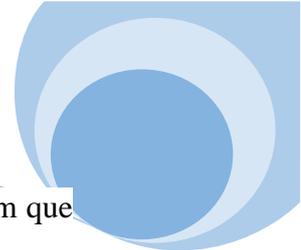
como mais prevalente, tal qual no estudo apresentado por Ramos & Boni (2018) que relataram a Sífilis Primária como a com maior prevalência (68,6%) em Maringá-PR entre os anos de 2013 a 2016, Padovani; Oliveira & Pelloso (2018) encontraram 67,41% casos diagnosticados como Sífilis Primária na 15ª Regional de Saúde do Estado do Paraná, no período de 2011 a 2015.

Todavia, os resultados foram opostos ao visto por Marques *et al.*, (2018) que identificou uma predominância da Sífilis Terciária (75,4%) ao analisar os casos notificados em Sobral-CE no período de 2012-2017 e de Cardoso *et al.*, (2018) com 28,6% no período de 2008-2010 em Fortaleza-CE, enquanto que Souza *et al.*, (2019) apresentou 50% dos casos notificados com o quadro secundário da patologia na pesquisa entre 2007 a 2013 em cidades localizadas na região de Pontal do Paranapanema.

Vale ressaltar que os referidos estudos consideraram apenas uma cidade enquanto que o presente trabalho delimitou o Estado como todo. Além do mais, a busca por atendimento e orientação nas Unidades Básicas de Saúde tem aumentado e reflete diretamente no diagnóstico prévio da doença, ainda mais que a relevância da classificação clínica considera o maior risco de transmissão vertical presente na Sífilis Primária e Secundária.

Na pesquisa realizada por Marques *et al.*, (2018) a faixa etária com o maior número de casos ocorridos compreende entre os 20 e 39 anos com 74,33%, resultado semelhante ao analisado tendo em vista que as faixas 20- 29 e 30-39 anos foram as mais relatadas. Associação também presente nos trabalhos de Gonzales; Tapia & Serruya (2014) com 69,6% entre 20 e 34 anos e Cavalcante; Pereira & Castro (2017) com 67,8% nessa mesma faixa. Já Ramos & Boni (2018) com 67,8% entre 20 e 30 anos, Padovani; Oliveira & Pelloso (2018) 67,41% entre 20 e 34 anos, Amsalu; Ferede & Assegu (2018) 48% entre 20 e 29 anos, além de Zhang *et al.*, (2019) com 37,9% também na mesma faixa etária, assim todos os resultados demonstram que a patologia costuma ocorrer principalmente durante essa idade reprodutiva feminina.

Amsalu; Ferede & Assegu (2018) associam ainda uma maior incidência dos casos de Sífilis Gestacional em mulheres com HIV ao estudar os quadros clínicos de mulheres grávidas no hospital Yirgalem, sul da Etiópia em 2016. O que representa um grande risco da ocorrência de natimortos principalmente em países em desenvolvimento como relatado na revisão sistemática feita por Aminu *et al.*, (2014) no período de 2000 a 2013.



No que se refere ao Grau de Escolaridade os resultados obtidos demonstram que a maior prevalência foi em paciente com a 5ª e 8ª série incompleta, corroborando com outros autores como Cavalcante; Pereira & Castro (2017) que identificou 42,1% e Marques *et al.*, (2018) com 27,6%, ressalta-se que a baixa escolaridade é um fator agravante para aumentar o risco de exposição às IST's, devido ao acesso limitado a informações relevantes sobre medidas preventivas.

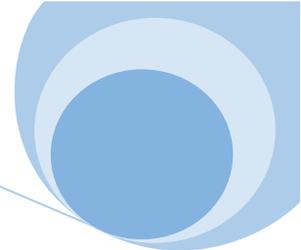
A maioria das pessoas que adquirem a sífilis não tem conhecimento da infecção, podendo ser transmitida durante a relação sexual ou de modo vertical da mãe para o feto, podendo acarretar em graves consequências como aborto, natimorto, parto prematuro, morte neonatal e manifestações congênitas precoces ou tardias. Isso ocorre devido à ausência ou escassez de sintomas, que variam de acordo com o grau da patologia.

Assim com os resultados do estudo conseguimos perceber que nos últimos anos tem se tornado cada vez mais incidente a transmissão da mãe para o filho, durante a gravidez, tal qual o aumento de pacientes grávidas que contraíram Sífilis no Estado do Pará, a maioria das mulheres são jovens com baixa escolaridade que tiveram acesso as Unidades Básicas de Saúde onde realizaram o pré-natal.

O aumento de casos de Sífilis em gestantes observada no Estado do Pará se deve entre outros fatores à baixa informação da população quanto os sinais e sintomas da doença, o que pode trazer graves consequências, entretanto, vale ressaltar que o aumento de registros de casos também se deve à maior cobertura de testagem, dessa forma sendo possível identificar um número maior de casos.

O diagnóstico da Sífilis é sorológico, por este motivo se faz importante o teste da Sífilis desde a primeira consulta de pré-natal, para que, caso seja necessária, a terapêutica adequada seja implementada imediatamente, sem prejuízo ao feto. Além do que para reduzir esse alto nível de incidência de Sífilis fazem-se necessárias medidas socioeducativas capazes de conscientizar essas mulheres sobre os riscos de IST's, não só para elas, mas para o feto, assim como o uso de preservativos durante as relações sexuais, para evitar o risco de transmissão.

Sendo outro ponto fundamental o treinamento das equipes multiprofissionais para prestar suporte adequado as pacientes, realizando busca ativa das gestantes que não comparecem as consultas periódicas de pré-natal, conscientizando sobre os riscos de relações sexuais desprotegidas e sensibilizando a população sobre o diagnóstico precoce e o tratamento eficaz.



4. REFERÊNCIAS

AMINU M.; *et al.* Causes of and factors associated with stillbirth in low- and middle-income countries: a systematic literature review. Royal College of Obstetricians and Gynaecologist, 2014.

AMSALU A.; FEREDÉ G.; ASSEGU D. High seroprevalence of syphilis infection among pregnant women in Yiregalem hospital southern Ethiopia. BMC Infectious Diseases. v. 18, n. 109, 2018.

CARDOSO A. R. P.; *et al.* Analysis of cases of gestational and congenital syphilis between 2008 and 2010 in Fortaleza, State of Ceará, Brazil. Ciência & Saúde Coletiva. v. 23, n. 2, p. 563-574, 2018.

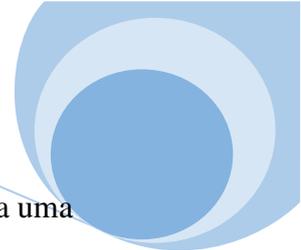
CAVALCANTE P. A. M.; PEREIRA R. B. L. CASTRO J. G. D. Sífilis gestacional e congênita em Palmas, Tocantins, 2007-2014. Serviço de Epidemiologia em Saúde [online]. v. 26, n. 2, p. 255-264, 2017.

GARCÍA-RODRIGUEZ J. A.; PICAZO J. J. Compêndio de Microbiologia Médica. 2 ed. Barcelona, Harcourt, p. 56-57. 2010.

GONZALES G. F.; TAPIA V.; SERRUYA S. J. Gestational syphilis and associated factors in public hospitals of Peru during 2000-2010. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. v. 31, n. 2, p. 211-221, 2014.

MAGALHÃES D. M. S.; *et al.* A sífilis na gestação e sua influência na morbimortalidade materno-infantil. Comunicação em Ciência da Saúde, v. 22, n. 1, p. 43-54. 2011.

MARQUES J. V. S.; *et al.* perfil epidemiológico da sífilis gestacional: clínica e evolução de 2012 a 2017. Sanare,. v. 17, n. 2, p. 13-20, 2018.



MATTHES A. C. S.; *et al.* Sífilis Congênita: mais de 500 anos de existência e ainda uma doença em vigência. *Pediatria Moderna*, v. 48, n. 4, p. 149-154, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Portaria nº 33, de 14 de julho de 2005. *Saúde Legis - Sistema de Legislação da Saúde*. <https://saudelegis.saude.gov.br/saudelegis/secure/norma/listPublic.xhtml>. Acessado em 05 de Maio de 2020.

PADOVANI C.; OLIVEIRA, R. R.; PELLOSO, S. M. Sífilis na gestação: Associação das características maternas e perinatais em região do sul do Brasil. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, v. 26, 2018.

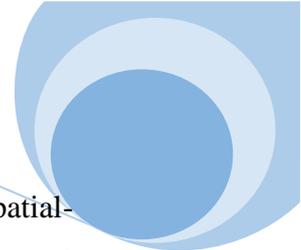
PINTO V. M.; *et al.* Prevalência de Sífilis e fatores associados a população em situação de rua de São Paulo, Brasil, com utilização de Teste Rápido. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, p. 341-354, 2014.

RAMOS-FILHO C.; MAY S. B. Aspectos históricos das doenças sexualmente transmissíveis. *Revista Saúde em Foco*, v. 17, p. 5-11, 1998.

RAMOS M. G.; BONI S. M. PREVALÊNCIA DA SÍFILIS GESTACIONAL E CONGÊNITA NA POPULAÇÃO DO MUNICÍPIO DE MARINGÁ – PR. *Revista Saúde e Pesquisa*, v. 11, n. 3, p. 517-526, 2018.

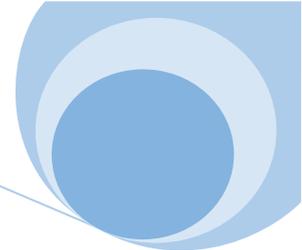
SEQUEIRA B. J. Epidemiologia da infecção por *Treponema pallidum* e por *Chlamydia trachomatis* em mulheres residentes no Estado de Roraima, Brasil. 2016. 97f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários, 2016.

SILVA M. R. G.; SANNA M. C. Profile of patients diagnosed with sexually transmitted diseases assisted at the santa casa de Guaxupé – MG, between 1923 and 1932. *Revista Mineira de Enfermagem*, 2016.



SOUZA J. M.; *et al.* Mother-to-child transmission and gestational syphilis: Spatial-temporal epidemiology and demographics in a Brazilian region. PLOS Neglected Tropical Diseases, 2019.

ZHANG X.; *et al.* Differences in maternal characteristics and pregnancy outcomes between syphilitic women with and without partner coinfection. BMC Pregnancy and Childbirth. v. 19, n. 439, 2019.



Capítulo 29

Pycnoporus sanguineus: UM FUNGO PROMISSOR PARA REMEDIAÇÃO DE CHUMBO EM CORPOS HÍDRICOS

Rafayla C Volochati¹, Durinézio J De Almeida², Bruno V Almeida³, Fabio L Melquiades⁴, Filipe Q Mariani⁵

¹Biomédica. Faculdade Campo Real, Guarapuava/PR.

²Biólogo. Doutor em Biologia das interações orgânicas. Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR.

³Físico. Universidade Estadual do Centro Oeste, Guarapuava/PR.

⁴Físico. Doutor em Física. Universidade Estadual de Londrina, Londrina/PR.

⁵Químico. Doutor em Química aplicada. UEL –UEPG –UNICENTRO, Londrina/Ponta Grossa/Guarapuava/PR.

1. INTRODUÇÃO

Os recentes crimes ambientais de Brumadinho e Mariana levaram a uma retomada da discussão sobre a gestão de resíduos e a contaminação ambiental, em especial a contaminação da água por metais pesados. Infelizmente a contaminação da água, é uma constante social desde que a manufatura de produtos tornou-se uma realidade na sociedade humana. Dentre os piores contaminantes ambientais temos os metais pesados como sendo os mais prejudiciais, pois suas características químicas impedem o processo de remediação e a bioacumulação invariavelmente leva a alterações fisiológicas deletérias, nos organismos vivos. Um dos metais pesados mais prejudiciais ao meio ambiente é sem dúvidas o chumbo (Pb). Relatos de contaminação por Pb, remontam a civilização romana, onde tubulações e utensílios de chumbo eram usados para distribuição e armazenamento de água (BELLINGER, 2016). Atualmente existem muitas fontes antropogênicas diferentes de contaminação e em áreas industriais o solo é normalmente contaminado por chumbo (ALLOWAY, 2013). E a má gestão e irresponsabilidade de algumas empresas, como demonstrado nos casos de Brumadinho e Mariana aumentam o risco e a vulnerabilidade ambiental e humana frente à contaminação ambiental.



No caso das contaminações por chumbo, esta afirmação é ainda mais contundente, pois não existe um nível seguro para exposição a este metal (BELLINGER, 2016). No entanto este metal é amplamente usado na indústria, para Capitani; Paoliello&Almeida, (2009), os principais usos industriais de chumbo são as fundições primárias (refino de minério de chumbo) e secundárias (fusão de sucatas ou barras de chumbo para fins variados), produção de ligas (bronze, latão), fabricação e recuperação de Baterias, esmaltação de cerâmicas, fabricação de pigmentos para cerâmicas, fabricação de PVC e outros plásticos, indústria de borracha, fabricação de cabos elétricos (elemento dielétrico), operação de corte e solda de peças e chapas metálicas contendo chumbo, jateamento de areia de estruturas metálicas pintadas com tintas com chumbo (pontes, navios), solda eletrônica (Sn + Pb) e produção de compostos orgânicos de chumbo.

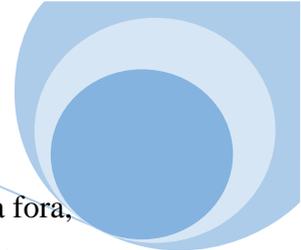
Estas indústrias geram resíduos que devem ser tratados antes de ser despejados no meio ambiente. No entanto eventos de contaminação ainda são recorrentes e em alguns países este é um problema de saúde pública (HARVEY; HANDLEY & TAYLOR, 2016).

Segundo Taylor *et al.*, (2017), após um evento de contaminação de água nos Estados Unidos da América houve um alarmante aumento de níveis de chumbo no sangue de crianças mesmo após o tratamento da água pelos métodos tradicionais.

Esta realidade demonstra a necessidade de pesquisas que desenvolvam técnicas de remediação para metais pesados. Dentre as principais técnicas, existem as de biorremediação, essas técnicas consistem do uso de organismos vivos, fungos, bactérias ou plantas, para complexar e remover os poluentes do ambiente.

Para Gaylard; Bellinaso & Manfio, (2005) estas técnicas são consideradas mais adequadas ecologicamente e tem demonstrado maior eficácia em sistemas de tratamentos industriais comparadas as técnicas físico-químicas, além de serem mais baratos e exigirem menor manutenção.

Várias espécies de fungos têm sido utilizadas, ao longo dos anos, buscando a otimização nos processos de biorremediação. Dentre os principais podemos descrever as espécies: *Aspergillus terreus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus niveus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium corylophilum*, *Parcilomyces variotti*, *Paecilomyces niveus* e *Fusarium sp.* (CHEW; OBBARD & STANFORTH, 2001; SILVA *et al.*, 2007; OLIVEIRA, 2008) todos fungos, de rápido desenvolvimento, que podem, no entanto, ser contaminantes biológicos de alimentos, os levando a rápida putrefação e alguns deles são tóxicos ao ser humano.



Uma das espécies que vem sendo testada pelos grupos de pesquisa mundo a fora, é o *Pycnoporus sanguineus* um fungo pluricelular, de morfologia semicircular e coloração alaranjada, presente em clareiras de florestas que cresce geralmente sobre troncos de árvores caídas (SILVA *et al.*, 2010) que não contamina alimentos e, portanto, não interfere no processo de putrefação, além de não ser tóxico aos humanos.

Este trabalho descreve os resultados obtidos em um experimento visando otimizar a biorremediação de Pb com a utilização de *Pycnoporus sanguineus*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. MICRO-ORGANISMO E INÓCULO

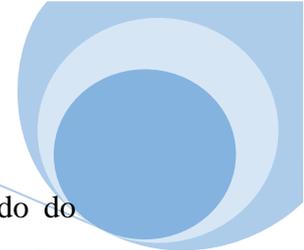
O isolado de *Pycnoporus sanguineus*, foi cedido pelo laboratório de bioprocessos de cogumelos da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), onde é mantido em meio sólido Agar PDA, e repicado trimestralmente.

2.2. FERMENTAÇÃO EM ESTADO LÍQUIDO COM ADIÇÃO DE METAIS

Para os experimentos com as células vivas do *Pycnoporus sanguineus* em ambiente contaminados, utilizamos 5 frascos previamente esterilizados por autoclavagem, onde foi colocado 200 mL de água ultrapura, a estes foi adicionado meio FAN conforme especificações do fabricante e incorporado acetato de chumbo (-Pb (C₂H₃O₂)²⁻) como fonte de contaminação na concentração de 10 mg.L⁻¹, por fim a este meio foi inoculado 10 mL de fungos obtidos de cultivo líquido prévio, estes frascos foram mantidos em temperatura ambiente durante 7 dias.

2.3. AVALIAÇÃO DO ACÚMULO DE BIOMASSA

Avaliamos também o acúmulo de biomassa do fungo no período de 10 dias, com o objetivo de verificar a tolerância do fungo a cargas contaminantes mais altas que as normais, para isto preparamos 30 frascos como descrito anteriormente, no entanto com



uma concentração de 10 mg.L^{-1} de chumbo e com $1000 \text{ }\mu\text{L}$ de inoculo liquido do *Pycnoporus sanguineus* estes frascos ficaram sob agitação em um agitador orbital e mantido a 25°C com pH ajustado a 6,5. Para obter a biomassa todos os dias foi realizada a filtragem de 3 amostras, com o auxílio de um papel filtro e um funil, esse filtro reteve todo o fungo que cresceu durante 24 horas e após pesagem obtivemos a biomassa acumulada no período o que nos permitiu inferir se o fungo estava crescendo ou não no meio contaminado.

2.4 COMPROVAÇÃO DO PROCESSO DE BIORREMEDIAÇÃO POR FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X COM DISPERSÃO EM ENERGIA (EDXRF)

Após fermentação por sete dias as amostras, foram filtradas, em membranas de acetato de celulose de $45 \text{ }\mu\text{m}$, os fungos que haviam crescido no frasco e qualquer outro material precipitado foi retido nesta membrana (MPS).

Após a filtração foi adicionado ao liquido o agente quelante Ditiocarbamato de Pirrolidina de Amônia (APDC), que reage com íons metálicos para formar complexos estáveis e insolúveis, após a reação, esse material foi novamente filtrado em membranas como anteriormente, para retenção dos metais que ainda estavam dissolvidos na solução e que foram complexados pelo quelante APDC (ANTUNES JUNIOR *et al.*, 2009).

As membranas como os materiais retido foram avaliadas por fluorescência de raios-x com dispersão em energia (EDXRF) gerando um gráfico, possibilitando a quantificação do chumbo contidos nas duas membranas obtidas (ANTUNES JUNIOR *et al.*, 2009). Esse experimento foi realizado no Laboratório de Física Nuclear Aplicada na Universidade Estadual de Londrina (UEL).

2.5. VISUALIZAÇÃO EM MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (MEV)

As membranas de acetato de celulose foram ainda visualizadas no MEV, no Laboratório de Materiais da Universidade Estadual do Centro Oeste (UNICENTRO),

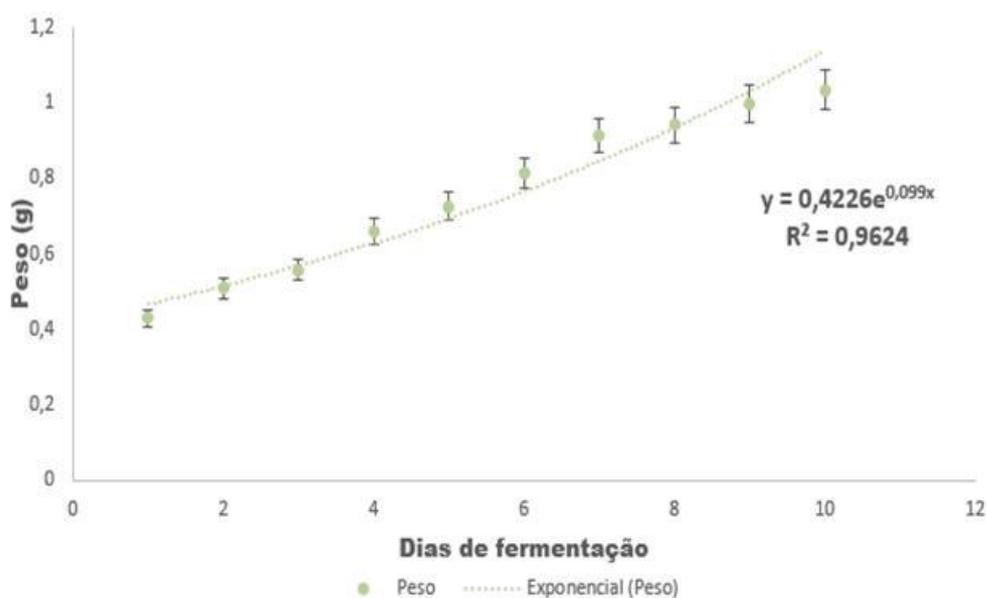
para a observação do desenvolvimento das hifas e para distinguir se o Pb havia sido adsorvido as hifas fúngicas como descrito na literatura.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

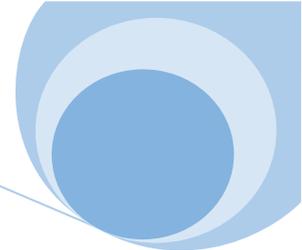
O primeiro passo deste experimento foi avaliar se altas concentrações de Pb alterariam o crescimento em meio líquido do *Pycnoporus sanguineus*. Pois caso o fungo não conseguisse crescer normalmente em ambiente contaminado o restante do experimento seria desnecessário, testamos esta possibilidade com análise de acúmulo de biomassa e observamos que houve crescimento significativo do fungo no meio com adição de chumbo comprovando que o *Pycnoporus sanguineus* contém as rotas bioquímicas necessárias para que o seu crescimento ocorra independentemente da toxicidade do chumbo presente no meio.

A avaliação da biomassa demonstrou que o fungo teve crescimento exponencial mesmo com a presença de 10 mg Pb L^{-1} (Gráfico 1). Esta característica está presente em fungos normalmente utilizados em biorremediação, como por exemplo, os do gênero *Aspergillus sp.*, que apresentam crescimento também exponencial em um período de 24 horas (3 mg Pb L^{-1}) (PALLU, 2006).

Gráfico 1. Biomassa do fungo *P. sanguineus* avaliada em 10 dias.



Fonte: Arquivo Pessoal.



Nas análises em EDXRF para o elemento chumbo, pudemos comprovar deposição de chumbo na membrana filtrante contendo o fungo (MPS), os resultados demonstraram que 30% do chumbo em solução foram retirados na primeira filtração e estavam contidos na membrana de MPS o que comprovou que *P. sanguineus* é capaz de imobilizar o metal dissolvido.

Conforme Azila *et al.*, (2008) já haviam trabalhado com o *P. sanguineus* em sistemas de biorremediação de Pb e reportam que um sistema de filtração utilizando biomassa seca de *P. sanguineus*, foi capaz de absorver 97,7% do chumbo, em um sistema de batelada com tempo de retenção de 24 horas, nossos dados demonstraram que o chumbo pode ser imobilizado pelo fungo em cultivo líquido com células vivas e sem tratamento térmico em até 30% para um período de cultivo de 7 dias. O que sugere que a inoculação do *P. sanguineus* em ambientes naturais, que foram contaminados por chumbo, é eficaz na remoção do chumbo embora a eficiência do processo seja menor que o processo de filtração por batelada em biomassa seca.

No planejamento experimental utilizado por Azila *et al.*, (2008) as variáveis independentes foram a concentração inicial do chumbo e o pH da coluna de retenção. Seus resultados demonstraram uma variação na retenção principalmente relacionada ao pH sendo o ótimo em retenção associado ao pH 4,0. Este pH é muito ácido e dificilmente encontrado em ambientes naturais. Em nosso experimento o pH foi mantido em 6,5 faixa de pH onde Azila *et al.*, (2008) obtiveram os piores resultados de retenção (5%). Cabe ressaltar que esta faixa de Ph é considerada ideal para o desenvolvimento da maioria dos seres vivos e, portanto, este pH seria o ideal em um ambiente natural.

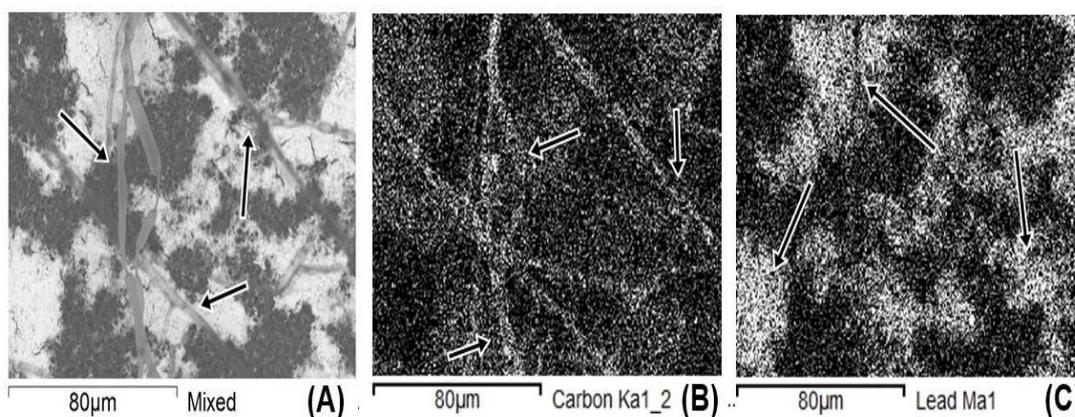
As vias metabólicas que os fungos utilizam para a realização do processo de biorremediação de chumbo ainda são incertas, porém, acredita-se que eles possuam adaptações fisiológicas, que os permite tolerar o metal disperso no ambiente (CHEW; OBBARD & STANFORTH, 2001).

Nós observamos a formação de um precipitado no fundo dos frascos que parecia diferir das hifas fúngicas em aparência geral, inferimos que o *P. sanguineus* estivesse liberando para o meio um quelante que imobilizasse o Pb dissolvido.

Para elucidar onde o chumbo havia se complexado, realizamos a análise de microscopia eletrônica de varredura (Figura 1), nas imagens foi possível verificar que o Pb quantificado na membrana não estava associado ao tecido da hifa, mas estava

crystalizado ao redor desta. Podemos, com base nestas observações, argumentar que como o fungo não adsorvia o chumbo na superfície do fungo como preconizou Azila *et al.*, (2008), tão pouco o *P. sanguineus* internalizava o Pb associando ao seu metabolismo, mas que o chumbo havia sido imobilizado na forma sais insolúveis, o que nos permite inferir que o fungo produziu substancias quelantes e as liberou para o meio neutralizando o efeito tóxico do chumbo, o que permitiu a permanência e desenvolvimento o fungo no meio liquido.

Figura 1. Visualização por microscopia eletrônica de varredura.



Legenda: (a) Demonstra as hifas do fungo *Pycnoporus sanguineus*. (b) Demonstra carbono na imagem, comprovando que se trata de material orgânico, portanto o fungo. (c) Cristais de chumbo.

Segundo Fourest & Roux(1992), foram os primeiros a descrever materiais quelantes de íons inorgânicos produzidos por fungos estudando resíduos miceliais de *Rhizopus arrhizus*, usados em indústrias de fermentação para produzir lipases, estes pesquisadores descreveram que a quelação observada era decorrente de mecanismo químico, equilibrado e saturável, seguindo o modelo de adsorção de Langmuir cuja principal variável era o pH.

A partir dos trabalhos de Goodel *et al.*, (1997), verificou-se que compostos de baixo peso molecular com capacidade de quelante de metais são produzidos por vários fungos de decomposição de madeira e que a madeira decomposta por estes fungos apresenta fenólicos com capacidade quelante.

Recentemente Boiteau *et al.*, (2018) e inúmeros outros, associaram o processo de quelação a fungos simbiotes, e decompositores (POLÁK *et al.*, 2018; KHULLAR,



2018; MUTHUKRISHNAN *et al.*, 2018; HUANG *et al.*, 2018; KRISHNAMOORTHY *et al.*, 2019).

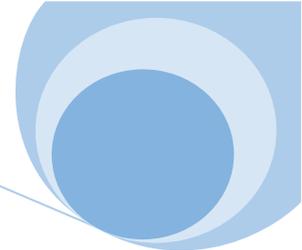
Dentre os basidiomicotas Wang *et al.*, (2019) descreveram que *Pleurotus ostreatus* ISS apresentou forte capacidade de tolerar o Pb em alta concentração e alcançou uma taxa de remoção de 53,7% em meio líquido. E que como em nosso experimento o Pb foi removido por precipitação.

Dentre os trabalhos realizados com *P. sanguineus*, os mais contundentes são o de Azila *et al.*, (2008) já relatado e o de Feng *et al.*, (2017) com biorremediação de Cr em cultivo em meio líquido.

Este trabalho demonstrou que assim como o *P. ostreatus* o *P. sanguineus* tem tolerância ao Pb em solução e que em um período de 10 dias houve redução da concentração de Pb em solução pela ação de um quelante que permite a precipitação do chumbo, no entanto este trabalho apresenta como limitações a impossibilidade de identificar quais substâncias foram produzidas pelo *P. sanguineus* e qual seu modo de ação, demonstrou ainda que a efetividade do fungo como redutor de Pb é baixa (30%) para o pH testado, mas que este pode ser uma possibilidade real de tratamento para áreas ambientais que foram contaminadas por chumbo como o caso do rio Paraopeba contaminado pelo crime ambiental de Brumadinho.

4. CONCLUSÃO

Podemos considerar que o *Pycnoporus sanguineus* é um organismo promissor no processo de biorremediação de chumbo em ambiente aquoso.



5. REFERÊNCIAS

ALLOWAY B. J. Sources of heavy metals and metalloids in soils. In: Heavy metals in soils. Springer Netherlands, v. 22, p. 11-50, 2013.

ANTUNES JUNIOR O. R.; *et al.* Análise de água e sedimento de pontos turísticos da cidade de Guarapuava, PR por fluorescência de raios x com dispersão em energia (EDXRF). Revista Ciências Exatas e Naturais, v. 11, n. 2, 2009.

AZILA Y.; *et al.* Process optimization studies of lead (Pb(II)) biosorption onto immobilized cells of *Pycnopus sanguineus* using response surface methodology. Bioresource Technology, v. 99, p. 8549–8552, 2008.

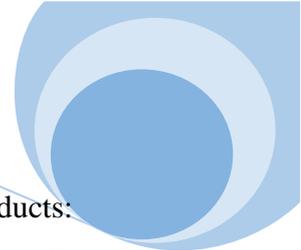
BELLINGER D. C. Lead contamination in Flint—an abject failure to protect public health. New England Journal of Medicine, v. 374, n. 12, p. 1101-1103, 2016.

BOITEAU R. M.; *et al.* Micronutrient metal speciation is controlled by competitive organic chelation in grassland soils. Soil Biology and Biochemistry, v. 120, p. 283-291, 2018.

CAPITANI E. M.; PAOLIELLO M. M. B.; ALMEIDA G. R. Costa. Fontes de exposição humana ao chumbo no Brasil. Medicina, v. 42, n. 3, p. 311-318, 2009.

CHEW I.; OBBARD J. P.; STANFORTH R. R. Microbial cellulose decomposition in soils from a rifle range contaminated with heavy metals. Environmental Pollution, v.111, p.367-375, 2001.

FENG M.; *et al.* Influence of co-existed tetrabromobisphenol A (TBBPA) and hexavalent chromium on the cellular characteristics of *Pycnopus sanguineus* during their removal and reduction. Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 142, p. 388-398, 2017.



FOUREST E.; ROUX J. C. Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-products: mechanisms and influence of pH. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 37, n. 3, p. 399-403, 1992.

GAYLARD C. C.; BELLINASSO M. L.; MANFIO G. P. Biorremediação: aspectos biológicos e técnicos da biorremediação de xenobióticos. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*, v. 34, p. 36-43, 2005.

HARVEY P. J.; HANDLEY H. K.; TAYLOR M. P. Widespread copper and lead contamination of household drinking water, New South Wales, Australia. *Environmental research*, v. 151, p. 275-285, 2016.

HUANG D.; *et al.* Biosorption behavior of immobilized *Phanerochaete chrysosporium* for heavy metals removal. *Environmental Engineering & Management Journal (EEMJ)*, v. 17, n. 12, 2018.

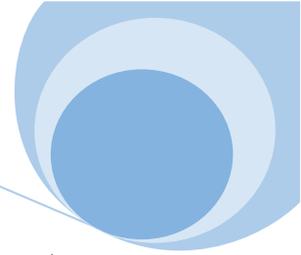
KRISHNAMOORTHY R.; *et al.* Management of Heavy Metal Polluted Soils: Perspective of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. In: *Sustainable Green Technologies for Environmental Management*. Springer, Singapore, p. 67-85, 2019.

MUTHUKRISHNAN G.; *et al.* Prospects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Heavy Metal-Polluted Soil Management. In: *Microorganisms for Green Revolution*. Springer, Singapore, v. 7, p. 91-113, 2018.

OLIVEIRA S. D. Emprego de Fungos Filamentosos na Biorremediação de Solos Contaminados por Petróleo. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, Série Tecnologia Ambiental, 45, p. 67, 2008.

PALLU A. P. S. Biossorção de cádmio por linhagens de *Aspergillus sp.* Dissertação (mestrado), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2006.

POLÁK F.; *et al.* Evaluation of aluminium mobilization from its soil mineral pools by simultaneous effect of *Aspergillus* strains' acidic and chelating exometabolites. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 181, p. 162-168, 2018.

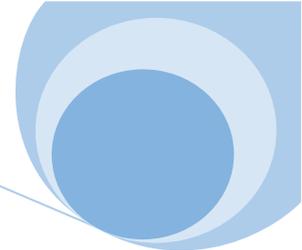


SILVA N. M.; *et al.* Avaliação do potencial antimicrobiano, enzimático e crescimento de um isolado amazônico do fungo *Pycnoporus sanguineus*. Manaus: Universidade do Estado do Amazonas - UEA, 2010.

SILVA, R. F.; *et al.* Seleção de fungos ectomicorrízicos tolerante a cobre em meio de cultura. Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul. 2007.

TAYLOR D. K.; *et al.* Surveying Resident and Faculty Physician Knowledge, Attitudes, and Experiences in Response to Public Lead Contamination. *Academic Medicine*, v. 92, n. 3, p. 308-311, 2017.

WANG Y.; *et al.* Removal and tolerance mechanism of Pb by a filamentous fungus: A case study. *Chemosphere*, v. 225, p. 200-208, 2019.



Capítulo 30

PANORAMA DO ACONSELHAMENTO GENÉTICO NO BRASIL

Airton LS Dos Santos¹, Ana C De M Guimarães¹, José H Da Cunha¹, Francisco A Da R Coelho¹, Leticia Da S Queiroz¹, Paloma M De S Araujo¹, Vanessa Dos S Brito¹, Wesley R Da Silva¹, Fabio JN Motta², Renata Canalle³

¹Discente de Biomedicina na Universidade Federal do Delta do Parnaíba – UFDPAr;

²Biomédico, Professor Associado I em Biomedicina na Universidade Federal do Delta do Parnaíba – UFDPAr;

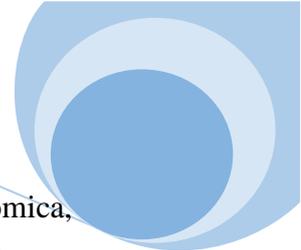
³Professora Associada III em Biomedicina na Universidade Federal do Delta do Parnaíba – UFDPAr.

1. INTRODUÇÃO

O genoma humano apresenta cerca de 20.000 genes, unidades que contêm a informação genética em sua forma alélica. A princípio, os genes são compostos de ácido desoxirribonucleico e influenciam todos os aspectos estruturais e funcionais do organismo. Estes estão contidos em cromossomos, formados pela compactação da cromatina para que haja divisão celular, mantendo o equilíbrio do indivíduo. Sendo assim, quando ocorrem erros durante as etapas correspondentes a este ciclo, resultam-se em diferentes tipos de fenótipos, principalmente os que correspondem às patologias humanas (EZKURDIA *et al.*, 2014).

A estabilidade do número de cromossomos só é possível pela realização de mitose, na qual as células-filhas possuem a mesma quantidade de material genético das genitoras. Assim, se os gametas fossem diploides, o zigoto teria o número de cromossomos duplicado. Para impedir esse acontecimento, as unidades sexuais entram em meiose, tornando-se haploides, de modo que haja restabelecimento dos dois conjuntos completos após a fecundação (EMER *et al.*, 2015).

Entretanto, as alterações ocasionadas por erros no conteúdo genético de um ser vivo são descritas como mutação, podendo se apresentar nas formas gênicas e cromossômicas.



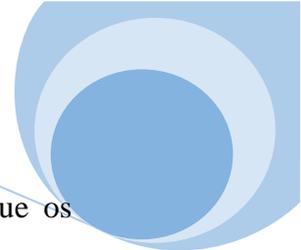
As primeiras são uma fonte importante de modificações na sequência genômica, que alteram a informação de um gene. Por outro lado, o genoma também pode ser remodelado em maior escala por meio de alterações na estrutura cromossômica, ou de alterações no número de cópias dos cromossomos em uma célula. Posto isto, quando essas alterações acarretam em doenças, é importante entendê-las e identificar os genótipos e os padrões de transmissão, a fim de evidenciar o risco de novas pessoas com o distúrbio naquele meio (EMER *et al.*, 2015).

Desse modo, necessita-se estudar os fatores que influenciam as frequências genéticas de toda a comunidade em um espaço de tempo e inseridas em um local específico. Esta análise de genealogias pode inferir elementos importantes do pool gênico da população, sendo possível depreender conjuntura de como as doenças hereditárias são perpetuadas na sociedade. E ainda, avaliar os efeitos da medicina e do controle de natalidade na proporção de doenças transmitidas, visto que o conjunto gênico é constituído por todos os alelos contidos nos indivíduos de um local, o que pode explicar características e patologias comuns em membros de uma comunidade (BERTOLLO *et al.*, 2013).

Em contrapartida, a Sociedade Brasileira de Genética Clínica e Sociedade Brasileira de Genética Médica, informam que 5% das gestações resultam em nascimento de um indivíduo com uma doença do gênero que comprometerá o desenvolvimento e a vivência dos mesmos. Etiologicamente, respondem por 15% a 25% das causas de morte perinatal e infantil nas nações subdesenvolvidas, sendo a segunda maior causa de óbitos de crianças no Brasil nos últimos 25 anos (BRASIL, 2009).

Por conseguinte, o diagnóstico precoce das doenças raras (DR) de cunho genético possibilita aos envolvidos o conhecimento acerca da doença, desde a sintomatologia, o prognóstico, as opções de tratamento e/ou manejo clínico disponíveis. Para isso, é necessário que os indivíduos passem por análises pré-natais, as quais estão inseridas como prática nas ações de gestão das unidades públicas de saúde que objetivam a saúde fetal. Devido à quantidade de crianças que nascem com distúrbios genéticos e a gravidade enfrentada pela família e o afetado, o Aconselhamento Genético (AG) foi fomentado para informar, pautado em análises estatísticas e árvores genealógicas, como a herdabilidade contribui para aparecimento de doenças (XAVIER, 2017).

Este procedimento engloba profissionais habilitados, objetivando inferir o risco de recorrência nos familiares, além de compreender a viabilidade de opções para lidar



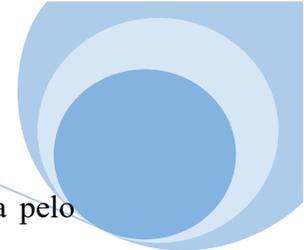
com essa situação, dando auxílio e oferecendo possibilidades de ações para que os indivíduos possam decidir da melhor maneira e sem influência dos profissionais, visto que os mesmos devem apresentar as opções e nunca ignorar ou interferir nos interesses dos envolvidos. Por isso, os exames são essenciais para detectar patologias, oferecendo aos pais o manejo correto de lidar com a situação, culminando na melhora da vivência da criança e aceitação dos pais (VIEIRA *et al.*, 2013).

Dessa forma, a consulta engloba três características principais: assimilação de todas as implicações que a doença em questão pode ocasionar na vivência dos consulentes e portador; compreender as opções que a medicina fornece como base terapêutica ou para a redução dos riscos de uma criança com a patologia; prover todo apoio psicológico, de forma a conferir assistência aos pais na tomada de decisões (MARTINS; BARBOSA & SILVA, 2013).

Os autores avaliam a efetividade do Aconselhamento Genético na rede pública de saúde brasileira, buscando enfatizar, as problemáticas para a consolidação dos serviços previstos nos protocolos e diretrizes vigentes.

2. MÉTODOS

Trata-se de uma revisão bibliográfica de caráter qualitativo de documentos que já foram publicados, sendo analisados e comparados para formulação do trabalho. Foi realizado uma busca nas bases de dados Scielo e PubMed, utilizando as seguintes terminologias cadastradas nos Descritores em Ciências da Saúde (DECs), “Aconselhamento Genético”, “cuidado pré-concepcional” e “serviços de saúde” inseridos na Biblioteca Virtual em Saúde (BVS). Utilizando-se ainda, dos operadores booleanos, pelo descritor 1 AND para pesquisas relacionando as palavras-chaves e descritor 2 OR para busca de textos sem a correlação das terminologias. Assim, foram definidos critérios de inclusão, sendo o ano de publicação entre 2008 e 2019, que relacionam a disponibilização do serviço na rede pública quanto promoção de saúde. Por outro lado, excluíram-se os estudos que destoavam deste panorama, com enfoque na disposição do serviço de AG em rede privada. Como também, foram coletadas as informações no portal eletrônico do Ministério da Saúde do Brasil, para identificar as políticas públicas adotadas, para avaliar a efetivação dos serviços incluídos nas “Diretrizes Para Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras no Sistema Único de



Saúde” previstos pela Portaria Nº 199, de 30 de Janeiro de 2014 implementada pelo Governo brasileiro (BRASIL, 2020).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos Estados Unidos, a prática do aconselhamento genético passou a dominar o campo da genética a partir de 1940. O biólogo Sheldon C. Reed propôs o termo *genetic counseling* (traduzido no Brasil como aconselhamento genético) e em 1947, passou a oferecer atendimentos às famílias de pessoas com doenças genéticas, se dispondo a explicar o significado de alguns traços genéticos típicos em algumas famílias, porém raros na população. Os primeiros departamentos de genética médica foram incluídos nas escolas de medicina em 1950, tornando a medicina cada vez mais propícia para o desenvolvimento da área (PINA-NETO, 2008).

No Brasil, a partir dos anos 60 e 70 os serviços de AG começaram a se desenvolver com interesse maior na pesquisa de certas doenças ou grupos de doenças genéticas, sendo estes serviços quase sempre ligados a cursos de Pós-Graduação em Genética Humana ou Médica. Durante as décadas de 70 e 80, foram sendo estruturados serviços de AG com maior capacidade assistencial, geralmente ligado a hospitais ou instituições universitárias. Ademais, estima-se que a maioria dos pacientes é atendida pelo sistema de saúde e não tem sua condição diagnosticada ou esclarecida (GUEDES & DINIZ, 2009).

A Portaria Nº 199, de 30 de janeiro de 2014, “institui a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras, aprova as Diretrizes para Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS) e institui incentivos financeiros de custeio”. Têm-se como objetivo contribuir para reduzir morbimortalidade e manifestações das doenças, culminando na melhoria de vida dos indivíduos, por intermédio de ações preventivas, detecção precoce, disponibilização de tratamentos e terapêuticas. E ainda, garantir a universalidade, a integralidade e a equidade das ações e serviços de saúde em relação às pessoas com DR, estabelecendo as diretrizes de cuidado (BRASIL, 2014).

Dentre as atribuições, evidencia-se o AG para os portadores e os seus familiares, que é realizado quando indicado pelos profissionais a frente do caso. A equipe multiprofissional prestadora do serviço deve preconizar o diagnóstico da doença, o tratamento, os medicamentos e demais produtos necessários, e o acompanhamento do

caso, previstos pelos Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) do Ministério da Saúde, dispostos na tabela abaixo (ICTQ, 2018).

Tabela 1. PCDT do Ministério da Saúde de doenças raras genéticas e suas respectivas portarias.

DOENÇA	NÚMERO DE PORTARIA
Acromegalia	Portaria Conjunta nº 02 -07//01/19.
Adenocarcinoma de Estômago, e de Próstata	Portaria nº 03 -15/01/18; nº 498 -11/05/16.
Anemia Aplástica, Mielodisplasia e Neutropenias	Portaria nº 113 -04/02/16.
Anemia Hemolítica Autoimune, na Doença Renal Crônica, e por Deficiência de Ferro	Portaria Conjunta nº 27 -26/11/18; nº 365 -15/02/17; nº 1.247 -10/11/14.
Aplasia Pura Adquirida -Crônica da Série Vermelha	Portaria nº 449 -29/04/16.
Atrofia Muscular Espinhal (AME) 5q tipo I	Portaria Conjunta nº 15 -22/10/19.
Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras	Portaria GM/MS nº 199 -30/01/14.
Câncer de Cabeça e Pescoço, de Cólon e Reto, e de Pulmão	Portaria nº 516 -17/06/15; nº 958 -26/09/14; nº 957 -26/09/14.
Carcinoma de Células Renais, de Esôfago, e de Mama	Portaria nº 1.440 -16/12/14; nº 1.439 -16/12/14; nº 19 -03/07/18.
Colangite Biliar Primária	Portaria Conjunta nº 11 -09/09/19.
Deficiência do Hormônio de Crescimento	Portaria Conjunta nº 18 -30/11/18.
Deficiência de Biotinidase	Portaria Conjunta nº 13 -04/05/18.
Degeneração Macular Relacionada com a Idade	Portaria Conjunta nº 18 -02/07/18.
Diabete Insípido, Melito Tipo I	Portaria nº 02 -10/01/18; nº 17 -12/11/19.
Dislipidemia	Portaria Conjunta nº 08 -30/07/19.
Doença Celíaca	Portaria nº 1.449 -11/11/15.
Doença de Alzheimer	Portaria Conjunta nº 13 -28/11/17.

Doença de Crohn	Portaria Conjunta nº 14 -28/11/17.
Doença de Gaucher	Portaria Conjunta nº 04 -22/06/17.
Doença de Parkinson	Portaria Conjunta nº 10 -31/10/17.
Doença de Wilson	Portaria Conjunta nº 09 -27/03/18.
Doença Falciforme	Portaria Conjunta nº 19/02/18.
Esclerose Lateral Amiotrófica	Portaria nº 1.151 -11/11/15.
Fibrose Cística	Portaria Conjunta nº 08 -15/08/17.
Fenilcetonúria	Portaria Conjunta nº 12 -10/09/19
Glaucoma	Portaria Conjunta nº 10 -02/04/18
Hemangioma Infantil	Portaria Conjunta nº 06 -23/02/18
Hemoglobinúria Paroxística Noturna	Portaria Conjunta nº 18 -20/11/19
Hidradenite Supurativa	Portaria Conjunta nº 14 -11/09/19
Hipoparatiroidismo Adquirido e Congênito	Portaria nº 450 -29/04/16; nº 1.161 - 18/11/15
Ictioses Hereditárias	Portaria nº 1.162 -18/11/15
Leiomioma	Portaria Conjunta nº 11 -31/10/17
Linfoma Difuso de Grandes Células B, Linfoma Folicular	Portaria nº 956 -26/09/14; Portaria nº 1.051 -10/10/14
Mieloma Múltiplo	Portaria nº 708 -06/08/15
Mucopolissacaridose do Tipo I e Tipo II	Portaria nº 12 -11/04/18; nº 16 -24/05/18.
Neoplasia Maligna Epitelial de Ovário	Portaria Conjunta nº 01 -07/01/19
Ovários Poliscísticos	Portaria Conjunta nº 06 -02/07/19
Polineuropatia Amiloidótica Familiar	Portaria Conjunta nº 22 -02/10/18
Puberdade Precoce Central	Portaria Conjunta nº 03 -08/06/17
Raquitismo e Osteomalácia	Portaria nº 451 -29/04/16
Rastreamento do Câncer do Colo do Útero	Portaria nº 497 -09/05/16
Síndrome de Turner	Portaria Conjunta nº 15 -09/05/18
Síndrome Nefrótica Primária	Portaria Conjunta nº 01 -10/01/18

Fonte: Adaptado do Ministério da Saúde, 2019.

Os procedimentos devem seguir uma ordem a fim de obter um resultado do atendimento satisfatório para os consulentes e os profissionais. Inicialmente, é realizada a anamnese, que consiste no preenchimento de um questionário contendo questões



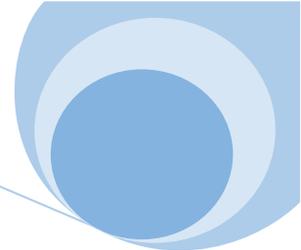
acerca do histórico clínico do paciente, histórico familiar de doenças, intercorrentes na gravidez, e presença de consanguinidade na família. Em seguida, os exames físicos, psicológicos e laboratoriais são realizados, para analisar o fenótipo do paciente, e ainda, é colhida amostra para a testagem citogenética, e caso não seja possível identificar, usa-se os testes moleculares, como o sequenciamento, de acordo com a disponibilização do serviço (PARANÁ, 2017).

Por fim, são elaboradas as hipóteses diagnósticas, e com isso, os profissionais podem transmitir as informações acerca do caso, e encaminhar o portador, caso seja necessário, para as terapêuticas disponíveis. Ademais, o serviço pode ser feito no pré-natal e é indicado principalmente em caso de gravidez em idade avançada, em mulheres portadoras de doenças que podem afetar o desenvolvimento do embrião ou que tenham tido abortos recorrentes e em casais com laços familiares ou que possuam histórico familiar de distúrbios genéticos (OSTERMANN *et al.*, 2017).

A Sociedade Brasileira de Genética Médica prevê a associação de médicos que se especializam em subáreas, e dentre elas pode ser oferecido à consulta genética. Ainda, é válido ressaltar, que outros profissionais como biomédicos e enfermeiros podem ser conselheiros geneticistas. Dentre as atribuições previstas pela associação, destaca-se:

1. Divulgar e ampliar o conhecimento e progresso da Genética Médica no país;
2. Estimular a formação de novos profissionais;
3. Representar a prática da especialidade brasileira em âmbito internacional;
4. Orientar e supervisionar as atividades relacionadas com o exercício profissional;
5. Assessorar os órgãos governamentais no credenciamento de unidades formadoras de especialistas na área (SBGM, 2019).

É evidenciado no desenvolvimento das práticas, que existem características impeditivas para a sua efetivação na rede pública devido ao difícil acesso a serviços especializados, a concentração dos serviços em poucas regiões e a insuficiência de recursos ou suporte laboratorial. Como também, o custo elevado dos exames diagnósticos, a falta de terapêuticas para as doenças e dos estudos na área, e ainda, a escassez dos profissionais qualificados para desempenharem suas atribuições (AYMORE, 2019).

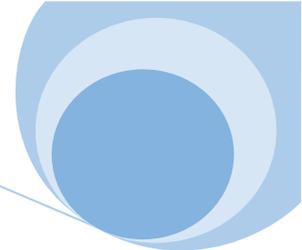


4. CONCLUSÃO

Para o enfrentamento das doenças raras genéticas, é indispensável a adoção de políticas públicas que reconheçam a importância da genética médica e clínica frente ao cuidado dos distúrbios, incorporando os procedimentos laboratoriais e aconselhamento genético, formado por equipe multidisciplinar, para atender todas as individualidades dos portadores e suas famílias.

Além disso, torna-se imprescindível o investimento governamental em estudos e os financiamentos para as instituições públicas que desenvolvem pesquisas, para aumentar o conhecimento acerca das doenças, seus possíveis tratamentos e métodos diagnósticos, visando reduzir os custos e torná-los mais acessíveis à população.

Sendo assim, incentivado por tal política, fomenta a funcionalidade e integralidade da rede de atenção as DR. Como também, o incentivo e a disponibilização para qualificação de mais profissionais das mais diversas áreas para que descentralize as ações, e a cobertura na população pelo serviço seja aumentada.



5. REFERÊNCIAS

AYMORE D. S. R. Três casos de aconselhamento genético no Brasil. PRACS: Revista Eletrônica de Humanidades do Curso de Ciências Sociais da UNIFAP, v. 12, n. 1, p. 49-63, 2019.

BERTOLLO E. M. G.; *et al.* O processo de aconselhamento genético. Arquivos de Ciências da Saúde, v. 20, n. 1, p. 30-6, 2013.

BRASIL. O SUS terá aconselhamento genético, 2009. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/janeiro/sus_aconselhamento_genetico_2201.pdf. Acesso: 17 nov. 2019.

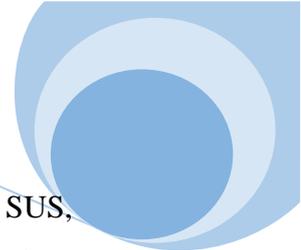
BRASIL. Portaria Nº 199, de 30 de Janeiro de 2014. Institui a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras, aprova as Diretrizes para Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS) e institui incentivos financeiros de custeio. Diário Oficial da União, 2014.

BRASIL. Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas – PCDT, 2020. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/protocolos-e-diretrizes>. Acesso: 17 nov. 2019.

EMER C. S. C.; *et al.* Prevalência das malformações congênitas identificadas em fetos com trissomia dos cromossomos 13, 18 e 21. Revista brasileira de ginecologia & obstetrícia. Rio de Janeiro, v. 37, n. 7, p. 333-338, 2015.

EZKURDIA I.; *et al.* Multiple evidence strands suggest that there may be as few as 19 000 human protein-coding genes. Human molecular genetics, v. 23, n. 22, p. 5866-5878, 2014.

GUEDES C.; DINIZ D. A ética na história do aconselhamento genético: um desafio à educação médica: um desafio à educação médica. Revista Brasileira de Educação Médica, [s.l.], v. 33, n. 2, p. 247-252, 2009.



ICTQ. Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas de Doenças Genéticas no SUS, 2018. Disponível em: <https://www.ictq.com.br/farmacia-hospitalar/1042-protocolos-clinicos-e-diretrizes-terapeuticas-de-doencas-geneticas-no-sus>. Acesso: 17 nov. 2019.

MARTINS D. V.; BARBOSA R. S.; SILVA A. J. B. O desafio de envelhecer com síndrome de down. In: Congresso internacional de envelhecimento humano: Avanços da ciência e das políticas públicas para o envelhecimento, Campina Grande PB, 2013.

OSTERMANN A. C.; *et al.* Perspectivas otimistas na comunicação de notícias difíceis sobre a formação fetal. Cadernos de Saúde Pública, v. 33, p. e00037716, 2017.

PARANÁ. Caderno de atenção ao pré-natal: Risco habitual, 2017. Disponível em: <http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/pdf6.pdf>. Acesso: 17 nov. 2019.

PINA-NETO J. M. Aconselhamento genético. Jornal de Pediatria, Rio de Janeiro, v. 84, n. 4, p. 20-26, 2008.

SBGM. Objetivos da Sociedade Brasileira de Genética Médica. Disponível em: <https://www.sbgm.org.br/conteudo.aspx?id=3>. Acesso: 17 nov. 2019.

VIEIRA D. K. R.; *et al.* Atenção em genética médica no SUS: a experiência de um município de médio porte. Physis: Revista de Saúde Coletiva, v. 23, p. 243-261, 2013.

XAVIER J. Pré-natal é essencial para o diagnóstico precoce de doenças raras, 2017. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/pre-natal-e-essencial-para-o-diagnostico-precoce-de-doencas-raras>. Acesso: 17 nov. 2019.

Capítulo 31

EVOLUÇÃO DO SARAMPO E REEMERGÊNCIA NA REGIÃO NORTE

Airton LS Dos Santos¹, Ana C De M Guimarães¹, Francisco A Da RCoelho¹, Letícia DaSQueiroz¹, PalomaM DeSAraujo¹, Vanessa Dos S Brito¹, Wesley R Da Silva¹, Aldenora MXRodrigues²

¹Acadêmico de Biomedicina, Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Parnaíba/PI.

²Biomédica, Dra. em Biotecnologia (RENORBIO – UFPI), Teresina/PI.

1. INTRODUÇÃO

O sarampo é uma doença infecciosa exantemática aguda, transmissível e extremamente contagiosa, podendo evoluir com complicações e óbitos particularmente em crianças desnutridas e menores de 1 ano de idade. A transmissão ocorre de pessoa a pessoa, por meio de secreções expelidas ao tossir, espirrar, falar ou até mesmo respirar. Dentre os principais sintomas, destacam-se inicialmente febre acompanhada de tosse persistente, irritação ocular, coriza, congestão nasal e mal-estar intenso. Posteriormente, há o aparecimento de manchas avermelhadas no rosto, que progridem em direção aos pés, com duração mínima de três dias. Não há tratamento antiviral eficaz para a infecção e, por isso, os doentes são tratados apenas dos sintomas e de complicações existentes (BRASIL, 2019a; BRASIL, 1999; DOMINGUES *et al.*, 1997).

Antes da introdução da vacina, em 1963, eram registradas importantes epidemias de sarampo a cada 2-3 anos e o mundo chegou a registrar cerca de 2,6 milhões de mortes ao ano. Atualmente, os países da África e Europa concentram o maior número de casos. No Brasil, essa infecção é de notificação compulsória desde 1968 e, em 1973 o Programa Nacional de Imunização (PNI) foi criado visando uma melhor distribuição vacinal no país. Algumas campanhas de vacinação em massa foram realizadas no final da década de 1980 e, devido a uma epidemia catastrófica no país em 1986, o Plano Nacional de Eliminação do Sarampo foi desenvolvido e implantado em 1992,



resultando na baixa morbimortalidade, registrada em 2000, com a notificação dos últimos casos nativos da doença (OPAS/OMS, 2019; FIOCRUZ, 2016; DOMINGUES & TEIXEIRA, 2013).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que desde o ano de 2000 a vacinação tenha evitado mais de 20 milhões de mortes no planeta. Embora haja prevenção segura e eficaz disponível, em 2017, foram 110 mil mortes por sarampo no mundo, principalmente entre crianças com menos de cinco anos de idade. Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), o sarampo é uma das principais causas de mortes nessa faixa etária. Nos primeiros 12 meses de vida a preocupação é maior, visto que a vacina é contraindicada para bebês com menos de 1 ano, idade em que os anticorpos maternos podem persistir em níveis capazes de interferir na resposta à vacinação. Uma vez que as pessoas não imunizadas, ao entrarem em contato com o vírus, têm alta probabilidade de serem infectadas, essas crianças tornam um dos grupos mais vulneráveis, por conseguinte, o mais atingido pela doença (BRASIL, 2019b; OPAS/OMS, 2019; CAMACHO *et al.*, 2000).

Em 2016, o Brasil recebeu o Certificado de Eliminação da Circulação do Vírus do Sarampo pela OPAS e a América Latina foi considerada livre da doença. Isso foi possível, devido à eficácia dos programas de combate ao agravo e a intensificação das campanhas de vacinação em todos os municípios do país a partir dos anos 90. A partir disso, observou-se uma queda brusca no número de casos confirmados e óbitos em território brasileiro. Entretanto, o cenário nacional mudou pouco tempo depois. Em 2018, foram notificados casos de sarampo em venezuelanos que adentraram no estado de Roraima, ocasionando um surto no estado, com ampliação de casos para Manaus, capital do Amazonas. Segundo o Ministério da Saúde, o início dos surtos nesses dois estados brasileiros relaciona-se diretamente com a entrada de imigrantes infectados pelas fronteiras brasileiras e suscetibilidade da população não imunizada e desprotegida (BRASIL, 2019b; FIOCRUZ, 2018).

Sabendo que a única forma de prevenir o sarampo é a vacina, a baixa cobertura vacinal foi apontada como o principal motivo para seu reaparecimento no país: a meta de vacinação anual é de 95%, mas em 2017 a cobertura foi de apenas 84,9% na primeira dose e de 71,5% na segunda, de acordo com o próprio Ministério da Saúde. Outros estados no Brasil,



fora da Região Norte, também registraram casos após a reemergência, sendo considerados isolados. Para especialistas do Departamento de Epidemiologia da Fiocruz, isso ocorre porque algumas regiões têm cobertura vacinal abaixo da média e assim, somando a alta patogenicidade do microrganismo, possibilita sua propagação rapidamente pelo território nacional (FIOCRUZ, 2018).

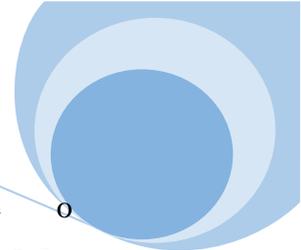
Esse capítulo teve o foco direcionado na análise dos casos e óbitos confirmados do sarampo na Região Norte do Brasil, antes e depois da eliminação da doença em 2016, discutindo os fatores que desencadearam o ressurgimento dessa problemática a partir de 2018.

2. MÉTODOS

Trata-se de um estudo descritivo, retrospectivo, com análise quantitativa de dados secundários acerca do Sarampo no Brasil, com ênfase na Região Norte, obtidos no Banco de Dados do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde – DATASUS. A coleta foi feita utilizando o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), bem como o Sistema de Informação Sobre Mortalidade (SIM) e o Boletim de Notificação Semanal (BNS). Para a descrição das informações, considerou-se os casos e óbitos notificados no período entre 1990 e 2015, antes da eliminação do vírus (2016) e, entre 2018 e 2019, após o ressurgimento.

Para revisão da literatura, foi utilizado as bases de dados online como o Sistema Online de Busca e Análise de Literatura Médica (MEDLINE), Scientific Electronic Library Online (SciELO), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) e Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), com os seguintes descritores: sarampo, vacinas e epidemia e, além disso, utilizou-se informações provenientes de boletins epidemiológicos e informes técnicos publicados pelo Ministério da Saúde e livros. Adotou-se os critérios de inclusão e exclusão do conteúdo encontrado, para relacionar os casos novos com a problemática na região Norte comparando com informes presentes na literatura.

Para tabulação de dados da pesquisa e elaboração de tabelas, foi utilizado o editor de planilha Microsoft Office Excel plataforma x86 (2016). O registro dos dados baseou-se no



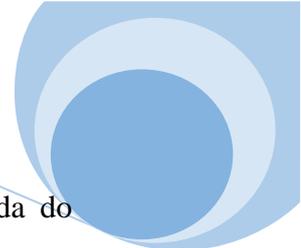
total de casos e total de óbitos, confirmados, de sarampo no Brasil e na Região Norte durante o período estudado, caracterizando os de maior incidência. O software QGIS 3.10.5 foi utilizado para a confecção do mapa geográfico de distribuição representativa, onde se utilizou dados do total de casos confirmados em cada região do Brasil por Unidade Federativa (UF) no ano de 2018, sendo usadas como bases cartográficas as malhas territoriais extraídas do site do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) na versão 2017.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se que entre os anos 1990 e 2000 (Tabela 1), houveram diversas oscilações nos números de casos. Em 1992 há uma diminuição bastante considerável, o que ocorreu devido ao alcance de uma cobertura vacinal maior com a implementação do Plano Nacional de Eliminação. Sabe-se que inicialmente, a grande quantidade de casos existia devido à desinformação acerca da importância da vacinação e de uma cobertura vacinal insuficiente. Nos anos seguintes, os casos variam até que em 2000 são confirmados os últimos casos autóctones no país (BRASIL, 2019c; DOMINGUES & TEIXEIRA, 2013).

A partir de 2001, os poucos infectados por sarampo confirmados passaram a ser todos importados de outros países, principalmente vindos da Europa e Ásia. Os números se mantiveram baixos até o fim de 2012, Tabela 1, e em seguida, houve um surto no Nordeste com casos nos estados de Pernambuco, Ceará e Paraíba, se estendendo até 2015. O motivo apontado como causados do problema nesses anos, é que devido a realização da Copa das Confederações em 2013 e a Copa Mundial de Futebol da FIFA em 2014, houve um grande fluxo de estrangeiros no país e isso aumentou a circulação do vírus no território. Estes foram os últimos surtos existentes no Brasil, quando o país estava prestes a receber a comprovação da eliminação do agravo (BRASIL, 2019c; DOMINGUES & TEIXEIRA, 2013).

Apesar disso, em setembro de 2016 o Comitê Internacional de Especialistas (CIE), responsável pela avaliação da documentação e verificação da Eliminação do Sarampo, Rubéola e Síndrome de Rubéola Congênita nas Américas, declarou a eliminação da circulação do vírus do sarampo na Região das Américas. Percebe-



seentãoque,entreosanos de 2016 até o final de 2017, a doença estava eliminada do território nacional, e não foi registrado nenhum caso confirmado, Tabela 1. As medidas implantadas no país ao longo dos anos tinham se mostrado efetivas no combate e no controle da problemática(BRASIL, 2019d).

Tabela 1. Números de casos confirmados e óbitos por sarampo na Região Norte e no Brasil, do ano de 1990 até 2019.

Região Norte			Brasil	
Ano	Casos Confirmados	Óbitos	Casos Confirmados	Óbitos
1990	5396	118	61471	478
1991	4665	53	42532	212
1992	480	04	7697	29
1993	239	02	2396	18
1994	265	01	1262	07
1995	141	01	972	07
1996	101	0	3326	07
1997	231	0	53664	60
1998	245	0	2781	03
1999	91	0	908	02
2000	17	0	36	0
2001	0	0	01	0
2002	0	0	01	0
2003	0	0	02	01
2004	0	0	0	01
2005	0	0	6	0
2006	0	0	57	01
2007	0	0	0	0
2008	0	0	0	0
2009	0	0	0	0
2010	03	0	68	0
2011	0	0	43	0
2012	0	0	02	0

2013	0	0	220	01
2014	0	0	876	0
2015	01	0	214	0
2016	0	0	0	0
2017	0	0	0	0
2018*	10245	12	10326	12
2019	125	0	18203	15

Legenda: *ano que marca a reemergência de casos no Brasil. **Fonte:** Secretaria de Saúde das Unidades Federias (UF).

Em 14 de fevereiro de 2018, as autoridades de saúde do estado de Roraima notificaram o Ministério da Saúde do Brasil sobre uma suspeita de caso de sarampo no município de Boa Vista, capital do estado. Um acríano venezuelano não vacinado de um ano de idade apresentou febre e erupção cutânea acompanhada de tosse, coriza e conjuntivite, que mais tarde foi confirmado como um caso de sarampo em laboratório. A partir desse, vários outros casos foram se confirmando e no fim de 2018, o Brasil registrou 10.326 casos confirmados, dos quais apenas 81 foram reportados de estados fora da região norte (tabela 1*) (MENESES *et al.*, 2019).

Os estados no norte do Brasil confirmaram 10.245 casos, Tabela 1*, desses: 9.803 casos foram somente no estado do Amazonas, 361 em Roraima, 79 no Pará e 2 em Rondônia, concentrando maior parte dos doentes como demonstrado na Figura 1. Apesar da gravidade da infecção, nota-se que não houve um número significativo de mortes decorrentes da patologia, visto que em 2018 o país teve apenas 12 óbitos confirmados, Tabela 1*. Entretanto, é possível inferir que isso aconteceu em virtude da subnotificação do número de doentes ou a falta de confirmação diagnóstica, gerando dados incorretos e insuficientes que não refletem a realidade brasileira, e dificultam a aplicação de medidas eficazes.

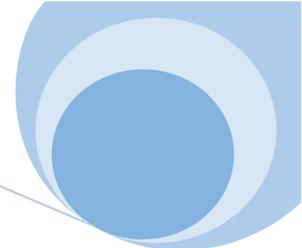
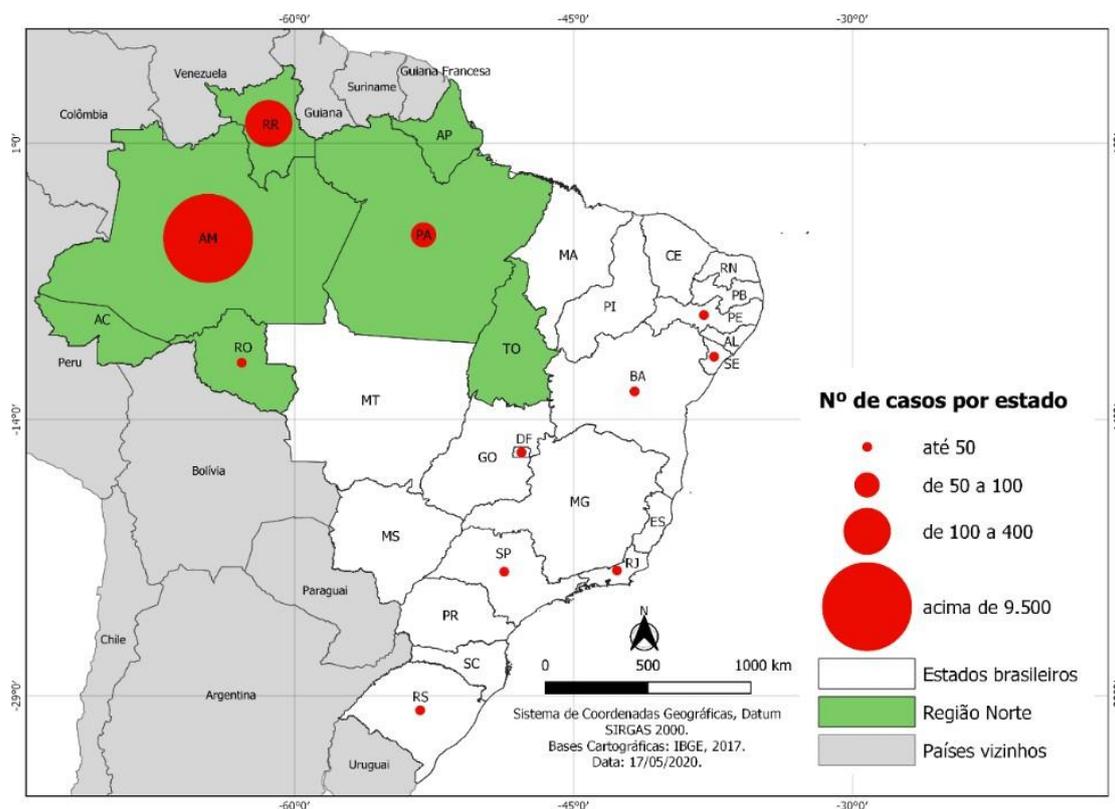


Figura 1. Mapa da Distribuição de Casos de Sarampo no Brasil no Ano de 2018.



Fonte: Elaborado pelos autores a partir do IBGE e Ministério da Saúde, 2020.

O sarampo reapareceu no Brasil pela região norte, inicialmente, por conta da aproximação de fronteiras com países vizinhos que estavam registrando grandes epidemias em 2017. A transmissão local começou através de casos provenientes de imigrantes da Venezuela e Bolívia que vieram doentes e rapidamente se espalhou pelos estados na região. Como ocorre com toda doença imunoprevenível, a baixa cobertura vacinal é sempre a principal razão para a doença retornar: a meta de vacinação contra o sarampo é de 95%, mas em 2017 a cobertura foi de 84,9% na primeira dose e de 71,5% na segunda, de acordo com o próprio Ministério da Saúde (FIOCRUZ, 2018).



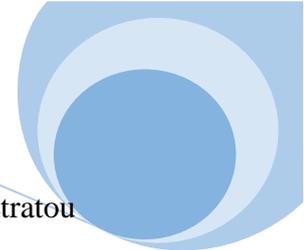
A região norte é destaque neste estudo, pois trata-se de uma análise acerca dos motivos que possibilitaram a reemergência da doença, concentrando a maior parte dos casos

confirmados durante o ressurgimento até janeiro de 2019. Os estados do Amazonas, Roraima e Pará foram os três primeiros em números de casos em 2018. Observando na Figura 1, nota-se que Roraima faz divisa com a Venezuela, o que explica a incidência nesse local. No entanto, mesmo sendo o primeiro estado a registrar novos casos, foi no Amazonas e no Pará que as autoridades de Vigilância Epidemiológica notificaram o maior número de focos da infecção. A explicação se dá, em razão da dificuldade que esses locais têm para imunizar os indivíduos desprotegidos, seja pelo difícil acesso das equipes de saúde aos ribeirinhos e comunidades instaladas em áreas isoladas, como também a falta de conhecimento acerca do calendário vacinal de crianças e adultos.

A alta patogenicidade do vírus em questão faz do sarampo uma doença altamente contagiosa. Com o aumento de pessoas não prevenidas, o que se observa em seguida é o aparecimento de focos de casos em mais 6 estados de outras regiões e no Distrito Federal. O fato é que após a eliminação da doença, as coberturas vacinais nos anos seguintes foram insuficientes e isto, somado à desinformação e não adesão das medidas preventivas, fez com que o público alvo não fosse atingido e o Brasil tivesse cada vez mais pessoas suscetíveis e desprotegidas, influenciando diretamente na incidência da doença no país (BRASIL, 2019c).

Além das pessoas que não conhecemos benefícios das vacinas e dos que não possuem acesso facilitado a elas, há ainda quem escolhe não se imunizar. Esses indivíduos compõem o movimento antivacina, que se baseia em dois argumentos principais: a crença de que as vacinas seriam tóxicas por possuírem mercúrio e outros metais em sua composição; e a suposta associação da vacina tríplice viral ao surgimento de autismo em crianças (VASCONCELLOS-SILVA; CASTIEL & GRIEP, 2015).

Todavia, o argumento de toxicidade vacinal foi contestado pela OMS ao evidenciar que algumas vacinas recebem um composto orgânico que contém mercúrio e um conservante, chamado tiomersal. Porém, não há evidências científicas que a quantidade dessas substâncias, utilizadas para a conservação das vacinas, sejam um risco para a saúde. A segunda alegação (vacina e autismo) foi refutada por diversos cientistas que apontaram incoerências na pesquisa inicial, apresentada no artigo publicado em 1998 pelo médico inglês Andrew Wakefield e mais 12 coautores na revista *The Lancet*, a começar pela



quantidade insuficiente de amostras. Em virtude disso, em 2010 a revista se retratou publicamente, dizendo que essa pesquisa nunca deveria ter sido publicada e seu autor teve o título cassado pelo Conselho Médico Geral do Reino Unido (VASCONCELLOS-SILVA; CASTIEL & GRIEP, 2015).

Além disso, a maior problemática não engloba apenas o desencadeamento de surtos ou o seu reaparecimento em determinada área, mas também o resultado na esfera individual que isso acarreta. Existem grupos de pessoas aos quais a vacina não é indicada, são eles: alérgicos ao ovo, bebês com menos de seis meses de vida, idosos, pacientes em tratamento quimioterápico, gestantes, quem faz uso de corticoide em doses altas, portadores de imunodeficiências congênitas ou adquiridas e transplantados de medula óssea. Estes, por não tomarem as vacinas, acabam ficando expostos e correm maiores riscos de complicações em caso de contrair a infecção. As pessoas que não fazem parte desse grupo e não estão imunizadas, acabam se tornando vetores de transmissão para os que estão desprotegidos, agravando ainda mais toda a problemática em questão.

Em 2019, a situação na região norte, em comparação com o restante do país, se mostrou controlada. Na Tabela 1, pode-se notar que foram registrados apenas 125 casos e nenhum óbito. Em contrapartida, o Brasil registrou no total mais de 18 mil casos, sendo a grande maioria no estado de São Paulo. Isso ocorreu porque o estado é a principal entrada do país por estrangeiros, os casos de 2018 se espalharam rapidamente por todo o território nacional e havia uma grande quantidade de indivíduos expostos residindo nas grandes cidades, o que permitiu o contágio rápido de milhares de pessoas.

Em relação ao atual contexto do Norte do país, é imprescindível salientar a existência de uma iniciativa conjunta da OMS, OPAS/OMS e do Ministério da Saúde na qual visam aumentar a área de cobertura vacinal e programar medidas educacionais e informativas. Além disso, é necessário a aquisição de maior quantitativo de vacinas, aumento da qualificação de profissionais e o remanejamento deles para a área mais afetada, a fim de impedir a disseminação dos surtos para outros estados brasileiros, como também para outros países.

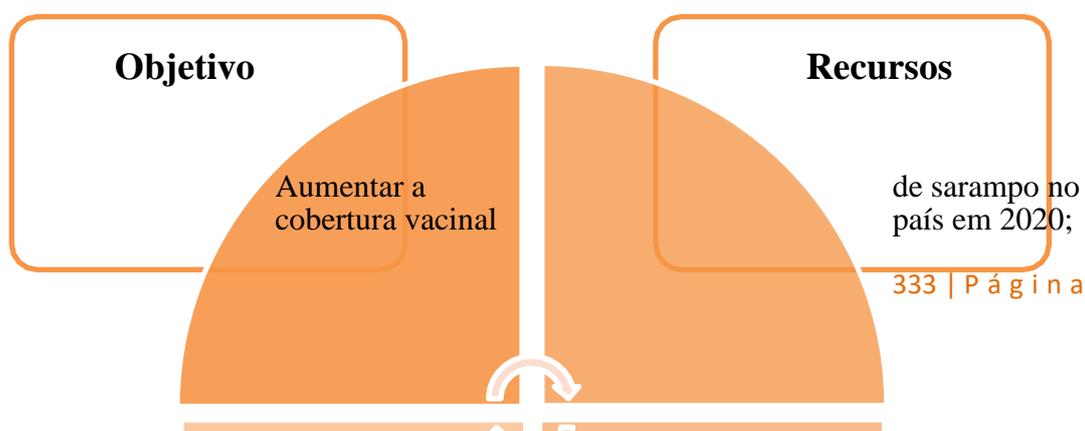
4. PLANO DE AÇÃO

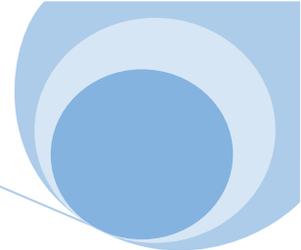
Um plano de ação na área da saúde baseia-se em estratégias que visem conter ou eliminar uma doença. Dentre as estratégias comumente utilizadas destacam-se a vigilância epidemiológica; comunicação e educação da comunidade e profissionais acerca da problemática da doença; disponibilização de diagnóstico breve; medidas que permitam a articulação político-gerencial e, por fim, vacinação, sendo esta medida a mais eficiente. Outras estratégias utilizadas se baseiam em incentivo, podendo ser de cunho financeiro, além da convocação e agendamento da vacinação direcionada à população-alvo (DOMINGUES *et al.*, 1997; JARRET *et al.*, 2015).

Assim, o Ministério da Saúde tem recomendado que todos os estados mantenham cobertura vacinal mínima de 95%, além de 70% de homogeneidade entre a cobertura dos municípios. No entanto, como já citado, nos últimos anos houve uma queda na cobertura vacinal, sendo o principal contribuinte, o movimento antivacina. Desta forma, as medidas desenvolvidas atualmente para o enfrentamento deste problema se baseiam no esclarecimento de informações a respeito dos benefícios da vacinação, elucidando questionamentos que venham surgir, visando a mobilização social e de instrumentos informativos para profissionais de saúde (BRASIL, 2018; DUBÉ; VIVION & MACDONALD, 2015; JARRET *et al.*, 2015).

Os veículos de comunicação em massa podem ser utilizados como instrumentos de divulgação dessas medidas, expondo a importância da participação da população nas campanhas de vacinação do Programa Nacional de Imunizações (PNI), além das ações de prevenção e controle da doença. Além dessas deliberações, cabe aos serviços de vigilância epidemiológica analisarem e monitorarem os registros das vacinas tríplice viral e tetraviral (doses aplicadas, coberturas vacinais e homogeneidade de cobertura vacinal) por meio dos Sistemas de Informações do PNI, tendo atuação principal nas localidades que estejam com registros abaixo do recomendado (BRASIL, 2018).

Figura 2. Plano de Ação Sugerido para Ações de Combate ao Sarampo no Brasil.





Financeiros e humanos: confecção

e veiculação de material informativo;

Durante o ano será avaliada a efetivação do plano;

Gestores do Ministério da Saúde em conjunto com as Secretarias e órgãos municipais;

Verificação

Responsáveis

Fonte: autores, 2020.

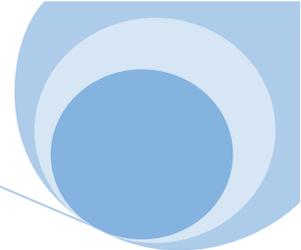
Outrossim, para as equipes de saúde devem ser que elas possuam conhecimento e manejo com atividades lúdicas para disseminar a informação para a população, assim como, estarem sempre sensíveis à identificação precoce de casos suspeitos de sarampo e todas as medidas de controle vigentes. Utilizando-se ainda dos protocolos epidemiológicos ativos, como notificação de casos suspeitos em 24 horas, uma investigação ágil, avaliações constantes das coberturas vacinais e de surtos. Ademais, é necessário que haja uma constante verificação das estratégias vigentes, identificando os pontos positivos e negativos, visando o aperfeiçoamento das políticas implantadas (JARRET *et al.*, 2015).

5. CONCLUSÃO

Ná década de 90, as oscilações constantes nos números de casos de sarampo no Brasil, são observadas, principalmente, devido à falta de informações acerca da importância da vacinação e de uma cobertura vacinal insuficiente. Este último foi praticamente o maior desafio de saúde pública relacionado ao combate dessa doença. Os motivos apontados como responsáveis pela reemergência após a eliminação em 2016 são, além da baixa adesão às vacinas no território nacional, a crescente do movimento antivacina e a falta de fiscalização nas fronteiras do Norte, que permitiram a entrada de imigrantes no país sem a imunização adequada.

Dessa forma, é necessário que órgãos de saúde em todas as instâncias formulem estratégias para diminuir o impacto desta problemática. Utilizando-se da vigilância

epidemiológica para correlacionar os fatores que motivam o surgimento dos casos de sarampo em uma determinada localidade e período, aplicando políticas de redução de danos e contribuindo para a disseminação de conhecimentos verídicos que contrapõem o que não possuem respaldo científico. Ainda, é imprescindível o abastecimento das unidades básicas de saúde com cartilhas e panfletos contendo informações acerca da doença e imunização, como também, a manutenção no quantitativo de vacinas de acordo com o estipulado para uma determinada população, bem como, realizar alocação e contratação de profissionais qualificados. Ademais, para um gerenciamento devido das políticas públicas, as criações de planos de ação tornam-se indispensáveis, contribuindo com a promoção de saúde e controlando a doença no território nacional.



6. REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Guia de vigilância em saúde, volume único. 3ª ed, p. 116-118. Brasília – DF. 2019d.

BRASIL. Programa Nacional de Imunização. Sistema de Informação do Programa Nacional de Imunizações - SIPNI. Brasília – DF.2018.

BRASIL. Sarampo: Situação Epidemiológica. Brasília – DF.2019b.

BRASIL. Secretaria de Estado da Saúde de Divisão de doenças de transmissão respiratória: Plano nacional de erradicação do sarampo. Secretaria de estado da saúde - Coordenação dos Institutos de Pesquisa Centro de Vigilância Epidemiológica "prof. Alexandre Vranjac", São Paulo, p. 1-13, 1999.

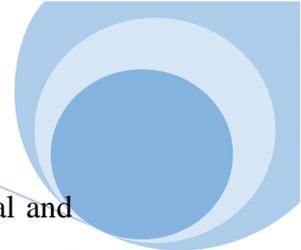
BRASIL. Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM). Sistema de Vigilância em Saúde. Casos confirmados de sarampo. Brasil, grandes regiões e unidade federativas 1990-2018*. Brasília – DF.2019c.

BRASIL. Situação do Sarampo no Brasil - 2018, informe 37, volume único. Brasília – DF,2019a.

CAMACHO L. A. B.; *et al.* Estudo de soroconversão com formulações da vacina Biken CAM-70 contra sarampo. Rev. Saúde Pública, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 358-366, 2000.

DOMINGUES C. M. A. S.; *et al.* A evolução do sarampo no Brasil e a situação atual. Informe Epidemiológico do SUS, v. 6, n. 1, p. 7-19, 1997.

DOMINGUES C. M. A. S.; TEIXEIRA A. M. S. Coberturas vacinais e doenças imunopreveníveis no Brasil no período 1982-2012: avanços e desafios do Programa Nacional de Imunizações. Epidemiologia e Serviços de Saúde, v. 22, n. 1, p. 9-27, 2013.



DUBÉ E.; VIVION M.; MACDONALD N. E. Vaccine hesitancy, vaccine refusal and the anti-vaccine movement: influence, impact and implications. *Expert Review of Vaccines*, v. 14, n. 1, p. 99-117, 2015.

FIOCRUZ. Fundação Oswaldo Cruz. Eliminação do Sarampo no Brasil tem Anúncio Internacional, 2016.

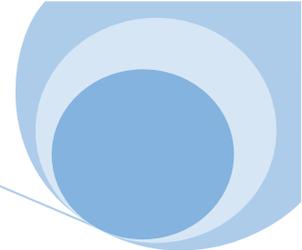
FIOCRUZ. Fundação Oswaldo Cruz. Sarampo de volta ao mapa. IBGE. Malha territorial compatível com a escala 1:250.000, versão 2017, 2018.

JARRETT C.; *et al.* Strategies for addressing vaccine hesitancy—A systematic review. *Vaccine*, v. 33, n. 34, p. 4180-4190, 2015.

MENESES C. A. R.; *et al.* Molecular characterisation of the emerging measles virus from Roraima state, Brazil, 2018. *Memória do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 114, p. e180545, 2019.

OPAS/OMS. Organização Pan-Americana de Saúde/Organização Mundial de Saúde. Folha Informativa - Sarampo. 2019. Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5633:folha-informativa-sarampo&Itemid=1060

VASCONCELLOS-SILVA P. R.; CASTIEL L. D.; GRIEP R. H. A sociedade de risco midiaticizada, o movimento antivacinação e o risco do autismo. *Ciência & Saúde Coletiva*, [s.l.], v. 20, n. 2, p.607-616,2015.



Capítulo 32

ASPECTOS GENÉTICOS DA MEMÓRIA DE TRABALHO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Klayane M De C Carvalho¹, Bárbara R De M Pinheiro¹, Vanessa G De Sousa², Valécia NC Da Silva³, Hoanna IR Castro⁴, Antonio T De Oliveira³

¹Acadêmica de Biomedicina pela Universidade Federal do Piauí-UFPI.

²Mestranda no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas – UFPI.

³Doutorando (a) pela Rede Nordeste de Biotecnologia (RENOBIO), pela UFPI.

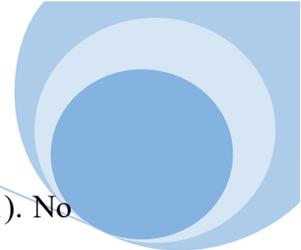
⁴Mestre em Biotecnologia pela Universidade Federal do Piauí.

1. INTRODUÇÃO

A Memória de Trabalho (MT), é definida como um sistema de memória que proporciona um armazenamento e manipulação temporária da informação a fim de executar tarefas cognitivas, como a compreensão do idioma, leitura e raciocínio. Além de meio para orientação no universo social e físico (BADDELEY, 1986; GATHERCOLE & PICKERING, 2000; ANDRADE; SANTOS & BUENO, 2004; GOLDBERG, 2009).

Nesse contexto, o desempenho da MT está relacionado à sinalização dopaminérgica do Sistema Nervoso Central (SNC), em especial a atuação do córtex cerebral devido à execução e codificação de aspectos neurobiológicos envolvidos no comportamento cognitivo (UEHARA & FERNANDEZ, 2010; VOUGHAN *et al.*, 2013). A sinalização dopaminérgica no córtex pré-frontal controla o fluxo de informações de outras áreas do cérebro, as quais são associadas às funções cognitivas incorporadas à MT (WAGER & SMITH, 2003; ERIXON-LINDROTH *et al.*, 2005).

A genética tem uma influência significativa nas diferenças individuais que ocorrem nas funções cognitivas, sendo os polimorfismos relacionados ao sistema dopaminérgico os genes candidatos mais estudadas (SAVITZ; SOLMS & RAMESAR, 2006; BELLANDER *et al.*, 2015). O nível de dopamina é essencial para a função pré-frontal (COOLS & ROBBINS, 2004), isso é bem documentado para o trabalho de



memória e outros aspectos do controle cognitivo (COOLS & D'ESPOSITO, 2011). No entanto, apesar da dopamina ser um neuromodulador chave que pode influenciar as interações entre rede cerebrais relevantes para a cognição e da sinalização de dopamina ser fundamental para a MT, a sua influência na conectividade entre redes é relativamente desconhecida, já que o controle cognitivo é um fenômeno multifatorial, na qual, exige um equilíbrio dinâmico entre a estabilidade cognitiva e a flexibilidade cognitiva (COOLS & D'ESPOSITO, 2011; CASSIDY *et al.*, 2016).

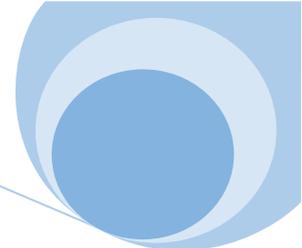
Desse modo, é essencial compreender influências moleculares na função cognitiva superior para esclarecer como alterações genéticas levam às disfunções cognitivas. Com isso, o presente trabalho tem o objetivo de levantar dados na literatura sobre os aspectos genéticos do sistema dopaminérgico associado à MT.

2. METODOLOGIA

Realizou-se uma revisão de literatura de forma sistemática, no período de Setembro a Outubro de 2019, por meio de busca eletrônica de artigos nos últimos nove anos, indexados nas bases de dados: PubMed, SCOPUS e *Web of Science* que abordassem os aspectos genéticos na MT.

A pesquisa nas fontes citadas foi realizada tendo como descritores: "*working memory*" AND (*genetic or polymorphism or gwas*) AND *dopamine*. As pesquisas foram pré-selecionadas pelos títulos, acompanhada da leitura dos resumos disponíveis e seguida da leitura completa dos artigos.

Foram incluídas publicações que atendessem aos seguintes critérios: artigos originais cujo trabalho experimental é realizado com seres humanos, estudos que associem MT e genética, e estudos que tenham a metodologia clara tanto para avaliar o perfil genético quanto para a MT. Posteriormente, foram excluídos artigos repetidos em diferentes bases de dados. Para a comparação dos resultados obtidos durante os estudos, construíram-se quadros onde se resumiu a metodologia e os principais resultados, a fim de facilitar a visualização das ações e seus efeitos.

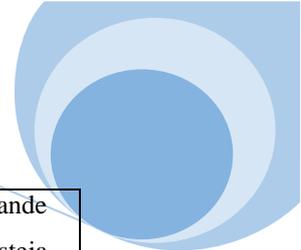


3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

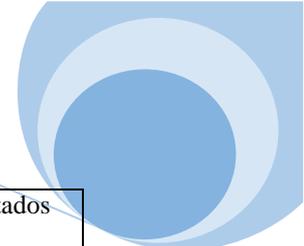
Na presente pesquisa, observou-se que a maioria dos estudos utilizavam como método Ressonância Magnética Funcional (fMRI), Reação em Cadeia Polimerase (PCR) e tarefa *n-back*.

Quadro 1. Descrição dos artigos que apresentam aspectos genéticos da MT, quanto ao método utilizado nos estudos e seus respectivos resultados.

AUTOR	METÓDO	ANO	RESULTADO
BERTOLINO <i>et al.</i> ,	PCR/ fMRI	2010	O genótipo <i>DRD2</i> previu diferencialmente a correlação entre a sinalização estriada da dopamina D2e a atividade do córtex pré-frontal durante a MT, medida com a ressonância magnética, que foi positiva em indivíduos GG e negativa emGT.
BLANCHARD <i>et al.</i> ,	<i>N-back</i>	2011	A análise revelou que o gene <i>DAT1</i> ou <i>COMT</i> sozinho ou em combinação não previu o desempenho na tarefa <i>n-back</i> na amostra de voluntários saudáveis.
BUKERT <i>et al.</i> ,	<i>N-back</i>	2012	Sob estresse o desempenho da MT dos homozigotos Met foi significativamente pior que o desempenho da MT dos homozigotos Val. É importante ressaltar que esse efeito do genótipo foi restrito ao nível médio de dificuldade da tarefa <i>N-back</i> .
FARRELL <i>et al.</i> ,	<i>N-back</i>	2012	No grupo placebo, os indivíduos com alelo Met- <i>COMT</i> superaram os indivíduos com alelo Val- <i>COMT</i> e foram mais avessos ao risco. O tolcapone teve efeitos opostos nos dois grupos de genótipos: piorou o desempenho na tarefa <i>N-back</i> em indivíduos com Met- <i>COMT</i> , mas o aprimorou em indivíduos com Val- <i>COMT</i> .
ZILLES <i>et al.</i> ,	PCR	2012	O gene <i>DAT</i> revelou um efeito significativo e seletivo na MT visuoespacial, enquanto não houve efeito no funcionamento da MT verbal. O gene <i>COMT</i> não mostrou influência em nenhum dos domínios da MT.
HEIM <i>et al.</i> ,	PET	2013	O desempenho relativamente melhor foi associado a menor concomitância do córtex pré-frontal dorsolateral (CPFDL) e córtex cingulado para Val/Val, mas mais concomitância de CPFDL com o hipocampo para Met/Met.



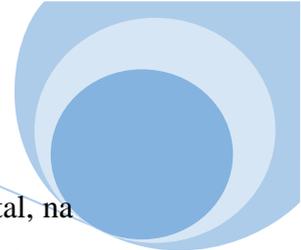
WARDLE <i>et al.</i> ,	PCR/ N-back	2013	O gene COMT não estava relacionado à MT nesta grande coorte populacional. É possível que o COMT não esteja significativamente associado à MT em adultos jovens saudáveis, ou que os efeitos do COMT sejam detectáveis apenas em avaliações que refletem processos neurais subjacentes à cognição, como ressonância magnética, em vez de desempenho comportamental.
BERRYHILL <i>et al.</i> ,	PCR	2013	Houve um efeito principal significativo de ambos os polimorfismos. Os tempos de reação da MT dos participantes diminuíram com o aumento da carga de Val, de modo que os homozigotos Val / Val apresentaram as respostas mais lentas e os homozigotos Met / Met foram os mais rápidos.
WANG <i>et al.</i> ,	FMRI	2013	O alelo Val foi associado a maior volume do hipocampo (hipocampo direito: $\beta = -0,118$, $t = -2,367$, $P = 0,019$, e hipocampo esquerdo: $\beta = -0,099$, $t = -1,949$, $P = 0,052$) e melhor desempenho MT ($\beta = -0,110$, $t = -2,315$, $P = 0,021$).
SMITH <i>et al.</i> ,	PCR/ N-back	2017	Somente na carga mais alta, observaram uma interação significativa COMT \times DARPP-32, de modo que o genótipo DARPP-32 T / T aprimorou a detecção de alvo em indivíduos COMT (Val/Val), mas prejudicou a detecção de alvo em COMT (Met) transportadoras.
HEINZEL <i>et al.</i> ,	PCR	2014	Tanto os adultos mais jovens quanto os mais velhos exibiram plasticidade comportamental considerável por meio de treinamento ($P < 0,001$), que foi maior nos mais jovens em comparação aos adultos mais velhos ($P < 0,001$). As diferenças relacionadas à idade foram qualificadas por uma interação com o genótipo COMT ($P < 0,001$), e essa interação ocorreu devido à diminuição da plasticidade comportamental em idosos portadores do genótipo Val/Val, enquanto não houve efeito do genótipo em adultos mais jovens.
BLASI <i>et al.</i> ,	PCR/FMRI	2015	Indivíduos com os alelos rs1076560 T e rs6314 T apresentam maior atividade pré-frontal de fMRI durante a MT. Resultados semelhantes foram obtidos dentro do domínio atencional. Além disso, a presença concomitante dos alelos rs1076560 T / rs6314 T também previu menor precisão comportamental durante a MT. Além disso, $n = 63$ e $n = 54$, respectivamente),



			consistente com os efeitos separados relatados anteriormente desses genótipos.
IHNE <i>et al.</i> ,	FMRI	2016	Não encontraram interações genótipo por carga ou efeitos principais do genótipo COMT na precisão ou no tempo de reação. De fato, mesmo o teste de diferenças de desempenho em cada carga de cada tarefa não conseguiu encontrar um único efeito significativo do genótipo COMT.
COLZATO <i>et al.</i> ,	N-back	2016	Nossas descobertas mostram que homozigotos de T / T (isto é, indivíduos potencialmente associados ao menor nível de DA estriatal) apresentaram maiores efeitos benéficos da suplementação de TYR que os homozigotos C / C isto é, indivíduos potencialmente associados a um nível mais alto de DA estriatal.
BLOKLAND <i>et al.</i> ,	FMRI	2017	Dois SNPs (rs7917410 e rs7672408) foram associados a um nível de significância de $p < 1 \times 10^{-7}$. Apenas um, que afetou mais fortemente a alteração do sinal BOLD no giro supra-marginal ($R^2 = 5,5\%$), apresentou múltiplos SNPs associados a $p < 1 \times 10^{-5}$ no desequilíbrio de ligação com ele, todos localizados dentro e ao redor do gene BANK1.
SALAMI <i>et al.</i> ,	n-back	2019	A análise identificou um subgrupo normal com maior desempenho ($n = 113$; 63%) e um segundo subgrupo menor ($n = 55$; 31%) com desempenho inferior.

A função da dopamina varia com o polimorfismo COMT genético - Val 158 Met. Esse polimorfismo regula a quantidade de enzima produzida. A enzima COMT eficiente (Val / Val) quebra a dopamina rapidamente, deixando pouca dopamina na sinapse, enquanto a enzima COMT menos eficiente (Met / Met) deixa a dopamina na sinapse por um longo período de tempo. Os resultados comportamentais sugerem que os homozigotos Met / Met têm melhor desempenho em várias tarefas da função executiva (BERRYHILL *et al.*, 2013).

De acordo, com Heim *et al.*, (2013), a dopamina é um dos vários transmissores neurais que modulam o processamento cerebral durante a MT. Porém, a enzima catecol-O-metiltransferase (COMT) não apresenta diferença de desempenho na MT. Isso pode ter ocorrido devido a interações complexas com a idade, o tipo de tarefa e ação de outros genes.



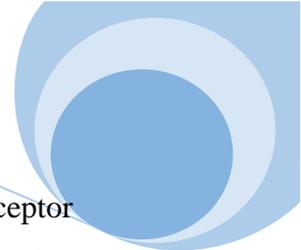
A relação de “U” invertido entre a dopamina e a função do córtex pré-frontal, na qual pouca ou muita sinalização de dopamina prejudica a MT, ou seja, níveis intermediários de sinalização da dopamina otimizam o desempenho da MT. Fatores genéticos e farmacológicos podem afetar a posição na curva. O COMT metaboliza a dopamina e é uma dessas influências (FARRELL *et al.*, 2012).

Diferenças no metabolismo do polimorfismo COMT (Val158Met) pode afetar a plasticidade da MT em idosos. Os efeitos do genótipo COMT são maiores em idosos do que em jovens. Essas diferenças relacionadas à idade têm relação não linear (inversa em forma de U) entre a disponibilidade pré-frontal de dopamina e o desempenho cognitivo executivo. Devido a uma diminuição relacionada à idade da neurotransmissão dopaminérgica, os idosos representam a seção esquerda relativamente íngreme dessa curva U inversa proposta para dopamina e desempenho. Portanto, uma redução adicional na disponibilidade de dopamina causada por um aumento da atividade enzimática do polimorfismo Val / Val COMT parece ter um impacto mais forte no desempenho da MT em idosos em comparação com adultos mais jovens (HEINZEL *et al.*, 2014).

Os efeitos do genótipo COMT na atividade e comportamento cerebral da MT não são estáticos durante o desenvolvimento do ser humano (DUMONTHEIL *et al.*, 2014). Não há impacto importante do genótipo COMT no desempenho comportamental da MT em adultos jovens saudáveis. Pode ser que o relacionamento entre COMT e MT mude com a idade. A atividade do COMT também pode mudar durante o desenvolvimento, aumentando até a adolescência ou os efeitos COMT podem não ter comportamento evidente na idade adulta, pois os indivíduos aprendem estratégias compensatórias (WARDLE *et al.*, 2013).

Levando em consideração a curva do U invertido entre a dopamina e o CPF. O desempenho da tarefa de MT sob estresse agudo acaba sendo influenciado pelo gene COMT. No qual, homozigotos (Val) se beneficiam do aumento da dopamina induzida pelo estresse em relação a homozigotos (Met). O estresse leva ao aumento da dopamina que por sua vez prejudica o funcionamento do CPF. De acordo com o modelo da relação invertida em forma de u da dopamina o grupo de pessoas que possuem um genótipo já esperado de baixo nível de dopamina alcança o nível ideal de dopamina (BUCKERT *et al.*, 2012).

Assim como, a variabilidade entre pessoas no desempenho da MT foi associada, em parte, as variantes do gene da dopamina como, Polimorfismos o polimorfismo Val



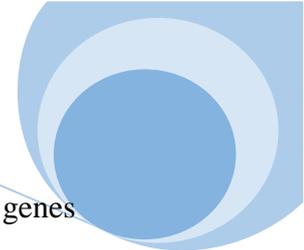
158 Met os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) localizados no gene do receptor D2 são relevantes para as vias de sinalização de dopamina também são outros exemplos associados ao desempenho da MT. O papel dos receptores D2 da dopamina em MT não foi firmemente estabelecido (SALAMI *et al.*, 2019).

O desempenho alterado da MT e a atividade pré-frontal podem fazer parte de um mecanismo fisiopatológico envolvendo também os receptores de dopamina D2 no estriado. Porém, os principais mecanismos anatômicos e moleculares que regulam a relação entre o risco genético de *DRD2*, a desregulação da dopamina da sinalização D2 e a disfunção da MT permanecem indeterminado (BERTOLINO *et al.*, 2010).

Ademais, a fosfoproteína regulada por dopamina (DARPP-32) que medeia a sinalização através do receptor do tipo dopamina D1, o receptor de dopamina dominante no córtex frontal, potencializa a sinalização do receptor DRD1 e o polimorfismo rs907094 T / T está associado à expressão aprimorada de DARPP-32 no CPF esse modulador pós-sináptico da sinalização da dopamina do CPF interage com um regulador pré-sináptico da sinalização da dopamina do CPF, o COMT Val158Met e influencia o desempenho da MT em humanos. Essa conjectura apoia um modelo em U invertido para o papel da sinalização da dopamina no desempenho da tarefa WM dependente de CPF, em que a sinalização DRD1 supostamente aprimorada (genótipo DARPP-32 T / T) teve efeitos diferentes com base nos níveis tônicos putativos de PFC DA (COMT genótipo) (SMITH *et al.*, 2017).

Os receptores de dopamina D1 no CPF também são críticos a MT. O índice de coexpressão poligênica (DRD1 –PCI) está associado a uma menor atividade do CPF e maior desempenho da MT. Podendo assim ajudar a vincular a expressão gênica à atividade cerebral e a desenvolver drogas que melhoram a MT, diferenciando os indivíduos com base em seus antecedentes genéticos. (BLASI *et al.*, 2018)

Os níveis de dopamina são substancialmente regulados por sua recaptação pelo transportador de dopamina (DAT) e por degradação enzimática por COMT. Em relação ao gene DAT, existe um número variável de polimorfismo de repetições em tandem (VNTR) que leva à expressão gênica alterada. O polimorfismo DAT tem influência a MT visuoespacial, enquanto que o polimorfismo COMT não tem influência. As redes neurais ativadas durante o desempenho da tarefa MT não se restringem ao CPF, mas envolvem outras áreas do cérebro nas quais a importância relativa do DAT pode ser diferente do CPF (ZILLES *et al.*, 2012; IHNE *et al.*, 2016). No entanto, um estudo que utilizou uma tarefa de *n-back* analisou que tanto o DAT quanto COMT não influenciam



a MT e sugere que esse resultado seja consequência de que esses dois genes moduladores da dopamina podem afetar processos cognitivos de ordem superior que não estão presentes na tarefa *n-back* utilizada no estudo (BLANCHARD *et al.*, 2011).

Em uma amostra chinesa foi observado o inverso do que se apresenta na maioria dos estudos relacionados ao gene COMT e funções cognitivas, especialmente MT, que indicam que o alelo Met está associado a uma melhor função da MT. Foi observado uma maior atividade enzimática (Val/Val) do COMT (Val158Met) e apresentou um desempenho melhor em tarefas de MT. Sugerindo assim a existência de uma diferença étnica sistemática no papel do *COMT* na MT, o que pode ser consequência das diferenças étnicas no efeito do COMT na estrutura cerebral relacionada à MT (WANG *et al.*, 2013).

A L-tirosina (TYR) precursora da dopamina melhora a liberação de dopamina no cérebro. Quando o nível ótimo dopamina é atingido a TYR não é mais convertida em dopamina, pois a tirosina hidroxilase a enzima responsável pela conversão é inibida. Indivíduos potencialmente associados a menor nível de dopamina estriatal mostram maiores efeitos benéficos da TYR em relação a indivíduos associados a maior nível de dopamina estriatal (COLZATO *et al.*, 2016).

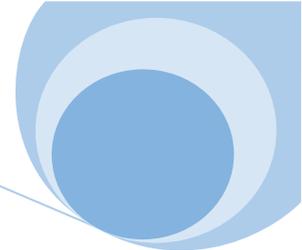
4. CONCLUSÃO

As diferenças individuais na função executiva e a capacidade de controlar ações de maneira direcionada por objetivos, são atribuíveis pelo menos em parte, à variação genética. A neurotransmissão dopaminérgica estriada aumentada e a disfunção do CPF são achados consistentes que podem estar correlacionados a deficiências funcionais cognitivas na MT. A compreensão do sistema de neurotransmissores de dopamina é fundamental para pesquisas com MT.

Desvendar as contribuições genéticas do sistema de dopaminérgico para a MT é fundamental para entender mecanismos neurais subjacentes à MT. Além disso, ajudará a reconhecer a base dos distúrbios psiquiátricos, por exemplo, esquizofrenia ou neurológicos, doença de Alzheimer e consequentemente desenvolver terapêutica individualizada.

Ademais, enfatiza-se a importância da MT para o controle cognitivo. Qualquer compreensão dos mecanismos básicos da MT leva diretamente a uma maior

compreensão dos aspectos mais complexos da cognição humana. Várias pesquisas relacionam genes da dopamina que influenciam a MT, porém, curiosamente os resultados dessas pesquisas convergem para o nível ideal de dopamina para o bom desempenho da MT. Chamando atenção para a necessidade de estudos futuros.



5. REFERÊNCIAS

ANDRADE V.; SANTOS M. F. H.; BUENO O. F. A. Neuropsicologia hoje. São Paulo, SP: Artes Médicas, 2004.

BADDELEY A. D. Working Memory. London: Oxford University Press, v. 2, n. 2, p.304, 1986.

BELLANDER M.; *et al.* Lower base line performance but greater plasticity of working memory for carriers of the val allele of the COMT Val158Met polymorphism. Neuropsychology, n. 29, n. 2, p. 247–254, 2015.

BERRYHILL E. M.; *et al.* COMT and ANKK1-Taq-Ia genetic polymorphisms influence visual working memory. Plos One, v. 8, n. 1, 2013.

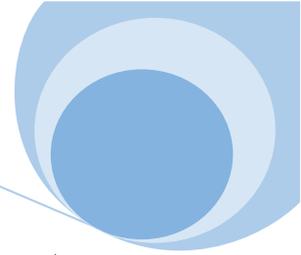
BERTOLINO A.; *et al.* Genetically determined measures of striatal D2 signaling predict prefrontal activity during working memory performance. Plos One, v. 5, n. 1, 2010.

BLANCHARD M. M.; *et al.* Effects of two dopamine-modulating genes (DAT1 9/10 and COMT Val/Met) on n-back working memory performance in healthy volunteers. Psychological medicine, v. 41, n. 3, p. 611-618, 2011.

BLASI G.; *et al.* Variation in Dopamine D2 and Serotonin 5-HT2A Receptor Genes is Associated with Working Memory Processing and Response to Treatment with Antipsychotics. Neuropsychopharmacology, v. 40, n. 7, p. 1600-1608, 2015.

BLOKLAND G. A. M.; *et al.* Genome-wide association study of working memory brain activation. International Journal of Psychophysiology, v. 115, p. 98-111, 2017.

BUKERT M.; *et al.* The COMT Val158Met polymorphism modulates working memory performance under acute stress. Psychoneuroendocrinology, v. 37, n. 11, p. 1810-1821, 2012.



CASSIDY C. M.; *et al.* Dynamic connectivity between brain networks supports working memory: relationships to dopamine release and schizophrenia. *Journal of Neuroscience*, v. 36, n. 15, p. 4377-4388, 2016.

COOLS R.; D'ESPOSITO M. Inverted-U-shaped dopamine actions on human working memory and cognitive control. *Biological Psychiatry*, v. 69, n. 12, p. e113-e125, 2011.

COOLS R.; ROBBINS T. W. Chemistry of the adaptive mind. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, v. 362, n. 1825, p. 2871-2888, 2004.

COLZATO L. S.; *et al.* Effects of l-Tyrosine on working memory and inhibitory control are determined by DRD2 genotypes: A randomized controlled trial. *Cortex*, v. 82, p. 217-224, 2016.

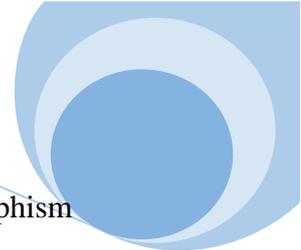
DUMONTHEIL I.; *et al.* Preliminary investigation of the influence of dopamine regulating genes on social working memory. *Social Neuroscience*, v. 9, n. 5, p. 437-451, 2014.

ERIXON-LINDROTH N.; *et al.* O papel do transportador estriado de dopamina no envelhecimento cognitivo. *Pesquisa em Psiquiatria: Neuroimaging*, v. 138, n. 1, p. 1-12, 2005.

FARRELL S. M.; *et al.* COMT Val158Met genotype determines the direction of cognitive effects produced by catechol-O-methyltransferase inhibition. *Biological Psychiatry*, v. 71, n. 6, p. 538-544, 2012.

GATHERCOLE S. E.; PICKERING S. J. Assessment of working memory in six-and seven-year-old children. *Journal of Educational Psychology*, v. 92, n. 2, p. 377, 2000.

GOLDBERG E. *The new executive brain: Frontal lobes in a complex world.* Oxford, UK: Oxford University Press, 2009.



HEIM A. F.; *et al.* The catechol-o-methyltransferase Val158Met polymorphism modulates organization of regional cerebral blood flow response to working memory in adults. *International Journal of Psychophysiology*, v. 90, n. 2, p. 149-156, 2013.

HEINZEL S.; *et al.* O genótipo Catechol-O-methyltransferase (COMT) afeta as alterações relacionadas à idade na plasticidade da memória de trabalho: um estudo piloto. *BioMed Research International*, v. 2014, 2014.

IHNE J. L.; *et al.* É realmente menos: um genótipo de eficiência pré-frontal realmente confere melhor desempenho quando a memória de trabalho se torna difícil? *Cortex*, v. 74, p. 79-95, 2016.

SALAMI A.; *et al.* Dopamine D2/3 binding potential modulates neural signatures of working memory in a load-dependent fashion. *Journal of Neuroscience*, v. 39, n. 3, p. 537-547, 2019.

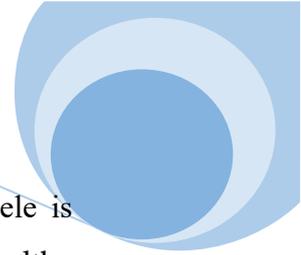
SAVITZ J.; SOLMS M.; RAMESAR R. The molecular genetics of cognition: dopamine, COMT and BDNF. *Genes, Brain and Behavior*, v. 5, n. 4, p. 311-328, 2006.

SMITH A. N. H.; CHALLA J. A.; SILVER M. A. Neither Cholinergic Nor Dopaminergic Enhancement Improve Spatial Working Memory Precision in Humans. *Frontiers in Neural Circuits*, v. 11, p. 94, 2017.

UEHARA E.; FERNANDEZ J. L. Um panorama sobre o desenvolvimento da memória de trabalho e seus prejuízos no aprendizado escolar. *Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio)*, . *Ciências & Cognição*, v. 15, n. 2, 2010.

VOUGHAN, R. A.; FOSTER, J. D. Mechanism of dopamine transporter regulation in normal and diases states. *Trends Pharmacol Sci*. 2013, September.

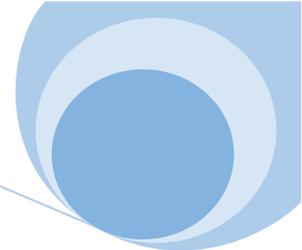
WAGER T. D.; SMITH E. E. Neuroimaging studies of working memory. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience*, v. 3, n. 4, p. 255-274, 2003.



WANG Y.; *et al.* COMT rs4680 Met is not always the 'smart allele': Val allele is associated with better working memory and larger hippocampal volume in healthy Chinese. *Genes, Brain and Behavior*, v. 12, n. 3, p. 323-329, 2013.

WARDLE M. C.; *et al.* Lack of association between COMT and working memory in a population-based cohort of healthy young adults. *Neuropsychopharmacology*, v. 38, n. 7, p. 1253-1263, 2013.

ZILLES D.; *et al.* Genetic polymorphisms of 5-HTT and DAT but not COMT differentially affect verbal and visuospatial working memory functioning. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, v. 262, n. 8, p. 667-676, 2012.



Capítulo 33

ALOPECIA ANDROGÉNICA PREMATURA: UMA ALERTA PARA OUTROS PROBLEMAS

Maria LN da Silva¹, Fátima Correia¹, Marinelle PL Pagkalis¹, Rafaela F Montanucci¹,
Patrícia Domínico²

¹Acadêmica de biomedicina, Centro Universitário Campos de Andrade- Uniandrade, Curitiba/PR.

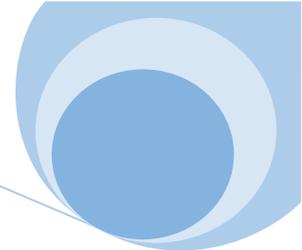
²Biomédica, Mestre professora, Centro Universitário Campos de Andrade – Uniandrade, Curitiba/PR.

1. INTRODUÇÃO

Alopecia androgenética, conhecida popularmente como calvície, é um tipo específico de queda de cabelos geneticamente determinadas. De acordo com dados divulgados pela SBC (Sociedade Brasileira Do Cabelo) no segundo semestre de 2018, em média 42 milhões de brasileiros sofrem com a calvície (BRASIL, 2017). Ainda de acordo com a SBC, um número que chamou a atenção foi a quantidade de jovens, entre 20 a 25 anos que também sofrem com a queda capilar. Homens e mulheres podem passar pelo problema. Mesmo sendo visível somente por volta dos 40 ou 50 anos o óbice já se inicia na adolescência. Segundo a OMS (Organização Mundial da Saúde), o problema atinge metade dos homens com até 50 anos (DIÁRIO DO LITORAL, 2018).

A calvície é resultado da estimulação dos folículos pilosos por hormônios masculinos (testosterona) que começam a ser produzidos na adolescência (MULINARI BRENNER; SEIDEL&HEPP, 2011). Caracterizada pela perda localizada ou difusa de cabelos ou pelos. O termo “andro” se refere ao hormônio masculino, porém na maioria dos casos os níveis hormonais se mostram normais nos exames de sangue, o que dificulta o tratamento precoce da calvície.

Considerada uma doença autoimune, pode ocorrer em qualquer área corporal, sendo mais frequente em couro cabeludo e barba. Além destes casos mais comuns, existe a alopecia androgenética prematura, que atinge diversas crianças pelo mundo.



2. FUNDAMENTAÇÃO

A doença pode afetar as crianças de diversas formas, como traumas (alopecia traccional ou tricotilomania), eflúvio telógeno ou anágeno, febres altas, desnutrição aguda, causa congênitas, psicológicas, e de natureza seborreica.

Nos recém-nascidos a queda de cabelo é normal, perdem alguns ou até mesmo todos os fios de seus cabelos. A perda de cabelo ocorre nos primeiros seis meses de vida e não é motivo de preocupação, é somente uma troca da penugem do recém-nascido por um cabelo mais maduro.

Em casos muito raros, os bebês podem nascer com a alopecia androgenética, que pode ocorrer por si só ou em associação com determinadas anomalias das unhas e dos dentes. Já em outros casos os bebês podem nascer com a alopecia areata que é uma doença comum em crianças e adolescentes, parece ser uma reação “alérgica” ao próprio cabelo.

A queda temporária de cabelo pode ser normal em crianças que são expostas a tratamentos médicos muito agressivos, como quimioterapia ou radioterapia, alguns tipos de fármacos podem causar isso também, produtos químicos, infecções causadas por fungos. Crianças alérgicas ao glúten de trigo e á lactose são propensas a queda de cabelo (CARVALHO, 1998).

Existem casos mais raros em que os folículos capilares já estão danificados a nascença, como na alopecia adnata ou congenital. Essa afecção acomete de 1% a 2% da população mundial, de ambos os sexos, de todas as etnias. Normalmente, as áreas de cabelos/pelos que caem são bem delimitadas e espalhadas pelo couro cabeludo (alopecia areata - AA); a doença também pode limitar-se à barba (alopecia areata barbae). Todavia, pode evoluir para a queda total de cabelo e de pelos do corpo. Surgem alterações nas unhas em 10% a 50% dos casos. AA afeta ambos os sexos e inicia-se em qualquer idade; porém, 60% dos primeiros episódios ocorrem entre 5 e 20 anos.

A lesão que caracterizam essa doença é uma placa alopécica lisa com coloração de pele normal acometendo o couro cabeludo ou qualquer região pilosa do corpo. Nas fases agudas, as lesões podem ser ligeiramente eritematosas e edematosas, surgindo no bordo das placas os pelos peládicos ou pelos em ponto de exclamação, que são afilados e menos pigmentados no ponto de emergência do couro cabeludo.

“Embora seja raro, a criança já pode nascer com um quadro de alopecia, em razão de uma doença conhecida como alopecia congênita. Nesses casos, pode ocorrer uma associação do problema capilar com alteração da dentição, unhas e glândulas sudoríparas” (RIBEIRO, 2014).

O diagnóstico geralmente é clínico, no entanto, existe um teste simples que auxilia na identificação dos casos de alopecia areata e a diferenciá-la de outros tipos de queda de cabelo. O teste consiste, basicamente, em puxar com delicadeza um tufo de cabelo (cerca de 60 fios) localizado nas margens das áreas pelada, o teste é positivo quando são arrancados, no mínimo, 6 fios pela raiz (COSTA, 2016).

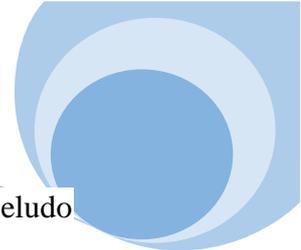
Figura 1. Imagem da matéria: “Calvície infantil: entenda melhor essa disfunção que pode afetar até bebês”.



Fonte: www.d.emtempo.com.br

3. TRATAMENTO

Diversos tratamentos estão disponíveis para a alopecia androgenética, medicamentos tópicos como minoxidil, corticoides e antralina podem ser associados a tratamentos mais agressivos como sensibilizantes (difenciprona) ou metotrexato.



Corticoides injetáveis podem ser usados em áreas bem delimitadas do couro cabeludo ou do corpo. A opção do tratamento deve ser realizada pelo dermatologista em conjunto com o paciente, visando controlar a doença, reduzir as falhas e evitar que novas surjam. Eles estimulam o folículo a produzir cabelo novamente, e precisam continuar até que a doença desapareça.

O tratamento não é obrigatório, pois não previne novos episódios, uma vez que a condição é benigna e tende a regredir espontaneamente. No entanto, é normalmente indicado pela sua capacidade de causar distúrbios psicológicos nos pacientes, assim, existem diversos tipos de tratamentos para a alopecia areata e ele irá depender das características clínicas de cada caso. Os fármacos utilizados podem ser de uso sistêmico ou local e a duração do tratamento irá depender da resposta de cada paciente (LOPES, 2006).

Existe também os tratamentos estéticos para o crescimento de cabelo como:

Laser de baixa penetração

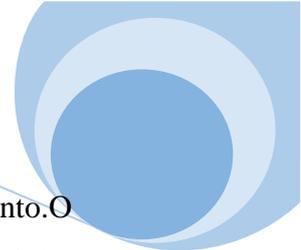
Esse tratamento para calvície é feito por meio de uma luz que tem ação direta no bulbo capilar, fazendo com que as células do cabelo sejam estimuladas a multiplicar. O laser dilata os vasos sanguíneos que transportam nutrientes e oxigênio para a matriz capilar, fortalecendo-a e reduzindo inflamações. Não provoca dor ao paciente, que passa a ter os resultados finais em seis meses.

Eletroestimulação

A eletroestimulação é um tratamento realizado por meio de pequenos choques no couro cabeludo. Esses choques têm por objetivo estimular as células do bulbo capilar, interrompendo a queda e fazendo com que os fios voltem a crescer. Também é um tratamento indolor e os resultados finais são notados em seis meses.

Intradermoterapia

Essa forma de tratamento consiste em passar um rolo com microagulhas no couro cabeludo, a fim de abrir pequenos canais. Por meio desses canais são introduzidas



algumas substâncias que interrompem a queda do cabelo e estimulam o crescimento. O silício orgânico e algumas proteínas são exemplos de substâncias utilizadas. Também não é um tratamento doloroso e os resultados são obtidos em cerca de 6 meses.

Remédio contra queda

Dutasterida é o nome dado a uma droga sintética muito eficiente para combater a queda de cabelos. Apresenta mais resultados que a finasterida, utilizada até então em tratamentos de calvície. O paciente não sente dor e os resultados são percebidos após 6 meses de tratamento.

Transplante folicular coronal

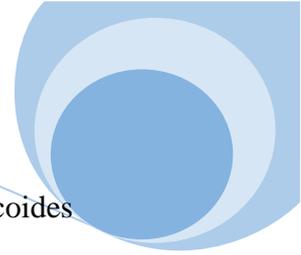
Esse tratamento só é possível se o paciente tiver, no mínimo 40% do cabelo. É uma espécie de avanço do transplante capilar, porém, em vez de tufo, são enxertadas unidades foliculares retiradas do próprio paciente. Esses fios implantados caem, em geral, após 4 semanas. Em seguida, nascem normalmente. O tratamento consiste em uma cirurgia de aproximadamente 5 horas e os resultados completos são obtidos em cerca de 8 meses.

Plasma rico em plaquetas

Uma novidade terapêutica que consiste em aplicar as próprias proteínas de crescimento celular do paciente em diferentes áreas do corpo para favorecer seu rejuvenescimento (SANTIAGO, 2011).

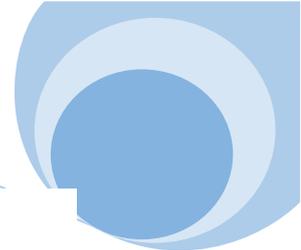
4. CONCLUSÃO

A alopecia areata é uma afecção frequente sendo mais raro as formas graves, que trazem importantes consequências psicossociais aos doentes. Atualmente, pode-se considerar a alopecia areata uma doença autoimune. As formas simples localizadas



curam-se espontaneamente ou respondem a tratamentos simples, como corticoides tópicos ou injetados localmente mediante infiltrações.

Todas essas técnicas de tratamentos apresentadas podem ser utilizadas somente em pacientes adultos, em paciente com menos de 18 anos são utilizados tratamentos com psicólogos que cuidam da parte emocional, pois a queda de cabelo pode estar associada a isso, um nutricionista pois a queda pode estar relacionada a má nutrição da criança e em alguns casos são receitadas medicações para controlar a queda. Tudo sobre supervisão médica.



5. REFERÊNCIAS

BRASIL. Sociedade Brasileira de Dermatologia. Alopecia Areata: Doença inflamatória que provoca a queda de cabelo [internet], 2017. Disponível em: <https://www.sbd.org.br/dermatologia/cabelo/doencas-e-problemas/alopecia-areata/22/>.

BRENNER-MULINARI F.; SEIDEL G.; HEPP T. Entendendo a alopecia androgenética. *Surgical And Cosmetic Dermatology*, v. 3, n. 4, p. 329-37, 2011.

CARVALHO M. I. Alopecia androgenética: contribuição ao estudo morfométrico e de imuno-histoquímica em folículos pilosos. Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1998.

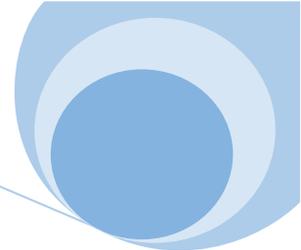
COSTA R. F. A. Microagulhamento para tratamento da alopecia androgenética masculina. [Monografia]. Recife: Instituto Nacional de Ensino Superior e Pesquisa e Centro de Capacitação Educacional, 2016.

DIÁRIO DO LITORAL. OMS: Metade da população masculina pode sofrer com a perda do cabelo até os 50 anos [internet], 2018. Disponível em: <https://www.diariodolitoral.com.br/brasil/oms-metade-da-populacao-masculina-pode-sofrer-com-a-perda-do-cabelo/120538/>.

LOPES A. C. Diagnóstico e tratamento. Editora Manole LTDA, v. 1, 2006.

RIBEIRO F. Calvície infantil: entenda melhor essa disfunção que pode afetar até bebês [internet], 2014. Disponível em: <https://d.emtempo.com.br/variedades/20082/calvicie-infantil-entenda-melhor-essa-disfuncao-que-pode-afetar-ate-bebes>.

SANTIAGO G. A. Presença de comorbidades como fator agravante de alopecia areata em crianças e adolescentes de 0 a 19 anos de idade no Hospital Universitário de Brasília. 2011. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) -Universidade de Brasília, Brasília, 2011.



Capítulo 34

A IMPORTÂNCIA DA BIOMEDICINA NO TRATAMENTO DA OBESIDADE INFANTIL

Maria LN da Silva¹, Millena S Marcilio¹, Maria EO de Souza¹, Gabriela FG Pinto¹,
Patrícia Dominico²

¹Acadêmica de Biomedicina, Centro Universitário Campos de Andrade- Uniandrade, Curitiba/PR.

²Biomédica, Mestre professora, Centro Universitário Campos de Andrade – Uniandrade, Curitiba/PR.

1. INTRODUÇÃO

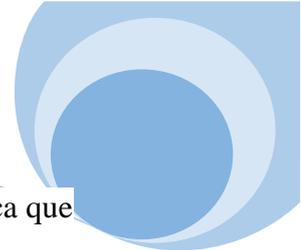
A obesidade infantil é um desvio nutricional importante que está aumentando exponencialmente no Brasil e no mundo, tornando-se um problema de saúde pública. A Organização Mundial da Saúde estima que 41 milhões de crianças menores de 5 anos sejam obesas ou estejam acima do peso no mundo, sendo considerada a “Síndrome do Novo Mundo”, uma epidemia mundial do século XXI (NAÇÕES UNIDAS, 2017).

É uma doença multifatorial que resulta da interação crescente de fatores genéticos, metabólicos, hormonais, ambientais, comportamentais e culturais. Pode desencadear problemas importantes de saúde, como elevação dos fatores de risco para doenças cardiovasculares, metabólicos, ortopédicos, neoplásicos, entre outros.

O Ministério da Saúde em 2013 registrou, pela primeira vez, que mais da metade da população (51%) encontra-se com sobrepeso, enquanto que 17,4% pode ser definida como obesa, aumento de 1,6 pontos percentuais em relação à pesquisa do ano anterior. O quadro é grave porque é sabido que a obesidade na infância está associada com maior probabilidade de obesidade na vida adulta, que se associa a várias doenças crônicas que aumentam na vida adulta (AMARAL, 2018).

2. FUNDAMENTAÇÃO

Obesidade é uma condição médica multifatorial caracterizada pelo excesso de gordura corporal, associada com um desequilíbrio crônico entre a energia ingerida e a



energia gasta, que causam prejuízos a saúde do indivíduo. Existe uma base genética que predispõe para a obesidade, mas ainda assim é um grande desafio definir o que é exclusivamente genético (MELO, 2016).

Sabe-se, por exemplo, que certos genes, com algumas variantes do chamado gene da obesidade, identificado pela sigla inglesa FTO, só se manifestam em determinadas condições ambientais. Cerca de 95% das causas da obesidade na infância estão relacionadas com a má alimentação, sedentarismo e hábitos de vida que são mantidos dentro de casa, e somente de 1 a 5% estão relacionadas a fatores genéticos ou hormonais (ZANIN, 2018).

Podemos identificar a obesidade infantil logo após o nascimento da criança, buscando apenas respostas para essas perguntas: qual o peso da criança ao nascer?; qual o índice de massa corporal dos pais?; a mãe fumou ou não durante a gravidez?; qual o número de pessoas que moram na casa da criança recém-nascida e o status profissional da mãe? Possibilitando a investigação de doenças genéticas através de análises bioquímicas de enzimas, substratos e produtos de diversas vias metabólicas (HOGENBOOM, 2012).

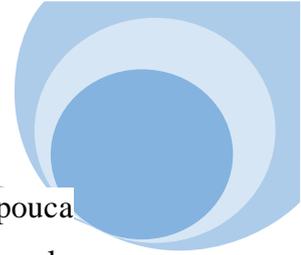
A obesidade infantil é uma questão sistêmica e não individual. Consciencializar a família sobre a sua influência no combate à doença é fundamental. O aumento da prevalência da diabetes tipo 2, doença cardiovascular e de alguns tipos de cancro estão intimamente relacionadas com o excesso de peso. Em 90% dos casos de diabetes tipo 2 são atribuídos a obesidade e, em obesos, o risco de doença cardiovascular é substancialmente maior, bem como a incidência de hipertensão arterial que aumenta cinco vezes, comparativamente com os que tem peso normal (LOURENÇO, 2015).

3. DISCUSSÃO

O estudo através da genética se destaca como sendo uma ferramenta importante para a detecção da obesidade infantil. Mas não é a maior dessa problemática social, sendo que os hábitos alimentares exercem mais força do que a própria hereditariedade.

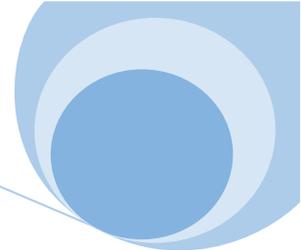
A biomedicina apresenta um papel importante na detecção da obesidade infantil logo após o nascimento da criança, sendo fator importante para promoção da qualidade de vida deste indivíduo futuramente (ALMEIDA, 2016).

A prevenção da obesidade na infância é reconhecida como a solução que trará benefícios de saúde a longo prazo. Os esforços de prevenção da obesidade infantil têm-



se centrado, em grande parte, na criança de idade escolar, tendo sido dada pouca relevância a criança de idade igual ou inferior a 5 anos. Esta posição é justificada pelo fato de que, nesta fase, a criança está aprendendo a adquirir comportamentos e hábitos, que se bem aplicados ajudam a prevenir a obesidade na infância (OLIVETO, 2017).

Sendo assim é correto afirmar que o excesso de peso nos primeiros anos de vida pode comprometer o desenvolvimento do sistema neural, metabólico e comportamental, conduzindo ao aumento do risco de obesidade e doença crônica na idade adulta (RASCOVSKI, 2016).



4. REFERÊNCIAS

ALMEIDA I. C. O. Fatores desencadeantes da obesidade infantil: genética e ambiente. RBONE-Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento, v. 10, n. 59, p. 212-214, 2016.

AMARAL D. Obesidade infantil não. Lusíadas [internet], 2018. Disponível em: <https://rotasaude.lusiadas.pt/criancas/obesidade-infantil/obesidade-infantil-os-futuros-adultos-obesos/>.

HOGENBOOM M. Cinco perguntas podem prever obesidade infantil. BBC News [internet], 2012. Disponível em: https://www.bbc.com/portuguese/noticias/2012/11/121129_obesidade_criancas_lista_fn

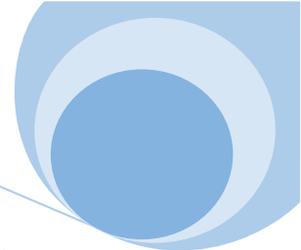
LOURENÇO M. Obesidade infantil: prevenir é a melhor opção. Universidade católica editora, 2015.

MELO V. A. A. M.; RIBEIRO M. A. Obesidade infantil: interações familiares e ciclo de vida numa perspectiva sistêmica. Appris Editora, 2016.

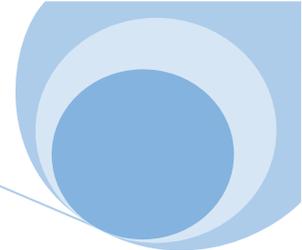
NAÇÕES UNIDAS. BRASIL. OMS lança novas diretrizes de combate à obesidade infantil no mundo [internet], 2017. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/oms-lanca-novas-diretrizes-de-combate-a-obesidade-infantil-no-mundo/>.

OLIVETO P. Risco de obesidade na infância tem a ver com genética e ambiente familiar [internet], 2017. Disponível em: <https://www.uai.com.br/app/noticia/saude/2017/03/13/noticias-saude,203309/obesidade-infantil-pode-surgir-do-mau-exemplo-dos-pais-para-os-filhos.shtml>.

RASCOVSKI A. Entenda a relação entre obesidade e genética [internet], 2016. Disponível em: <https://www.minhavidade.com.br/alimentacao/materias/18089-entenda-a-relacao-entre-obesidade-e-genetica>.



ZANIN T. Causas da obesidade infantil. Tua saúde [internet], 2018. Disponível em:
<https://www.tuasaude.com/obesidade-genetica/>.



Capítulo 35

IDENTIFICAÇÃO DE ENTEROPARASITAS EM ALFACES DE CULTIVO TRADICIONAL E HIDROPÔNICO PROVENIENTES DE FEIRAS LIVRE

Najara L Da Silva¹; Franciarli Da S Paz¹; Mayra S Da Silva¹, Raissa X Ferreira¹, Lília RF Da Silva², Hemeson L De Moura², Anne CM De Vasconcelos², Madelleyne De SC Soares².

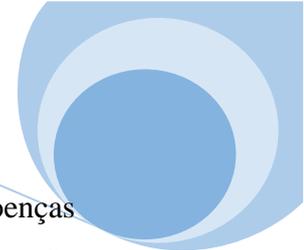
¹Discente em Biomedicina, Centro Universitário Uninorte, Bloco da Saúde, Rio Branco, (AC), Brasil.

²Docente de Biomedicina, Centro Universitário Uninorte, Bloco da Saúde, Rio Branco, (AC), Brasil.

1. INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa*) tornou-se uma das hortaliças mais comercializadas no Brasil e as formas mais comercializadas hoje são as alfaces de cultivo tradicional e hidropônico devido ao seu baixo custo de produção, sua fácil comercialização no mercado e por apresentar manejo relativamente baixo, o que conseqüentemente fez com que essa verdura fosse inserida ao hábito alimentar dos brasileiros através do consumo de saladas. O consumo de alface *in natura* é recomendado por ser uma importante fonte de fibras alimentares, por ter baixo teor calórico, além de fornecer sais minerais, cálcio e vitaminas, especialmente a vitamina A (CARVALHO *et al.*, 2010). Por esta ser uma hortaliça muito consumida, é comercializada em diversos estabelecimentos, como supermercados, feiras livres e sacolões, sendo as variedades lisa e crespa as mais encontradas no país (PACIFICO *et al.*, 2013).

A alface por ser de fácil manuseio é bastante produzida no Brasil. Este, no que lhe concerne, é um país de clima tropical, onde favorece a disseminação de doenças infecciosas e tem um alto índice de doença parasitária dentre os brasileiros, principalmente aqueles de baixa renda e que não dispõem de condições higiênico-



sanitárias adequadas fazendo desta um grande veículo de transmissão de doenças parasitárias para o ser humano tornando um fator limitante para a sua comercialização (MONTANHER *et al.*, 2007), pois a contaminação pode ocorrer em qualquer etapa da cadeia produtiva que engloba plantio, processamento, comercialização e principalmente, o consumo (PIRES *et al.*, 2014).

As DVAs (Doenças veiculadas por alimentos), principalmente as doenças intestinais, representam um sério problema de saúde pública no Brasil uma vez que essas infecções podem acometer pessoas de todas as idades e classes sociais. Dentre as enfermidades intestinais mais importantes, destacam-se as provocadas por protozoários e helmintos, cuja infecção ocorre principalmente pela ingestão de alimentos contaminados pelas formas transmissíveis da doença que podem ser ovos, larvas, cistos ou oocistos (MONTANHER *et al.*, 2007).

De acordo com Pires *et al.*, (2014) a ingestão de hortaliças contendo as formas infectantes de helmintos e protozoários, pode acarretar sérios problemas de saúde, em pessoas de todas as idades e classes sociais, tais como má absorção alimentar, anemia, indisposição, pouco rendimento em atividades cotidianas e muitas outras. Os sintomas variam de acordo com a espécie parasitária, o estado imunológico do paciente, e também da carga infectante ingerida.

A contaminação das hortaliças pode ocorrer por conta do contato das folhas com a terra, no caso das alfaces de cultivo tradicional, e também pelo manuseio incorreto e pelo transporte até o local de exposição aos consumidores. Porém, um dos elementos cruciais para que se ocorra o contágio é a água utilizada na irrigação das folhas, onde muitas vezes o local de origem da água fica próximo a criadouros de animais domésticos, tais como cães, gatos, galinhas e gado, por exemplo, o que indica grande probabilidade que estes animais são meios de propagação no cultivo das hortaliças (FALAVIGNA *et al.*, 2005).

É fato que a ingestão de hortaliças *in natura* permite a propagação oral de parasitos intestinais. Vários estudos sobre o assunto relatam altos índices de contaminação de formas evolutivas infectantes de parasitos, como cistos e oocistos de protozoários e ovos de helmintos, mas dificilmente larvas de nematoides (ESTEVES & FIGUEIRÔA, 2009).

Apesar de o consumo das alfaces terem aumentado significativamente devido sua importância nutricional, nota-se que há um descuido em torno da sua manipulação e limpeza, já que a higienização correta pode eliminar 90% do seu risco de infecção por



parasitas intestinais. Esse descuido dá-se muitas vezes pela falta de informação das pessoas. Segundo Pires *et al.*, (2014) o controle parasitológico de verduras consumidas cruas é um grande desafio, particularmente quando se verifica a inclusão cada vez maior das hortaliças na dieta da população mundial.

Vale ressaltar que a contaminação de hortaliças pode ocorrer nos processos de irrigação, coleta, transporte, armazenamento e comercialização. É comum em regiões do Brasil, fazer o uso de esterco de animais como adubo e regar verduras com água poluídas com fezes humanas (PACIFICO *et al.*, 2013)

Com base nas informações apresentadas, o presente estudo traz como contribuição a diversidade e frequência de formas infectantes de parasitos em alfaces de cultivo tradicional e hidropônico provenientes de feiras livres em Rio Branco/AC, e sua relação com a sazonalidade climática.

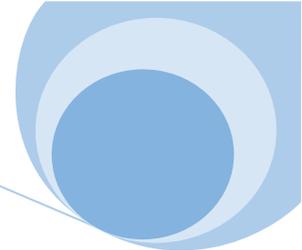
2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostra e Locais de Coleta

Foi realizada a catalogação das feiras livres de Rio Branco/AC onde se obteve um total de 18 feiras e destas foram escolhidas aleatoriamente cinco feiras. Das feiras sorteadas, foi colhido um total de 154 amostras de alfaces (*Lactuca sativa*) de cultivo tradicional e hidropônico no período seco e chuvoso. As primeiras coletas foram realizadas nos meses de setembro, outubro, novembro e dezembro de 2016 que são os meses considerados como período seco onde se obteve em um total de 76 amostras e as últimas coletas foram realizados nos meses de fevereiro, março, abril e maio de 2017, considerados como o período chuvoso onde se obteve um total de 78 amostras colhidas.

As amostras foram coletadas aleatoriamente uma vez por semana em cada uma das cinco feiras livres. Foram coletadas com luvas de procedimento e colocadas individualmente em sacos plásticos de primeiro uso.

Cada amostragem foi identificada e acondicionada em caixas térmicas, em seguida foram levadas para o laboratório de Microbiologia da Faculdade Barão do Rio Branco, campus Uninorte em Rio Branco/AC, onde permaneceram mantidas sobre refrigeração a uma temperatura de menos 10°C, onde posteriormente foram processadas e analisadas.



2.2 Análises das Amostras e Preparo das Lâminas

Para investigação das estruturas parasitárias presente nos espécimes foi utilizado dois métodos: método de sedimentação espontânea Hoffman; Pons & Janer (1934), adaptado para análises parasitológicas em alimentos, por ser de baixo custo, ser de fácil execução, e por ser o método mais utilizado na investigação de cistos/oocistos de protozoários e ovos/larvas de helmintos.

No laboratório, cada unidade foi colocada dentro de uma bacia plástica previamente limpa e em seguida retirou-se as raízes e folhas deterioradas. As folhas que restavam foram lavadas com 300 mL de solução de NaCl a 0,9% para que as impurezas e sujidades se desprendessem das folhas. O líquido da lavagem era então posto em um Becker de 500 mL com algumas poucas folhas e adicionava-se 0,5mL de solução de detergente a 0,5% para completar a limpeza.

Em seguida, o Becker com o líquido era colocado sobre um agitador magnético onde permanecia em agitação por uma hora, para que todo possível parasito se desprendesse das folhas. Após o término da agitação o líquido era filtrado com o auxílio de uma peneira e gaze e inserido em um cálice de sedimentação. Ao final, o cálice era tampado com papel alumínio para evitar qualquer contaminação e deixado em repouso para sedimentação das estruturas parasitárias durante 24 horas para que ocorra a sedimentação total de todos os ovos e/ou cistos dos parasitos intestinais.

Após 24 horas de sedimentação, desprezou-se o excesso de sobrenadante do cálice ficando apenas uma pequena quantidade do sedimento. Com a ajuda de uma pipeta de Pasteur, foi inserido uma gota do sedimento (cerca de 0,5cm) em uma lâmina e em seguida foi adicionado o reagente Lugol sobre a amostra e por fim adicionada lamínula. Com a lâmina preparada, o material foi levado ao microscópio óptico e observado na objetiva de 10x onde era possível observar estruturas como ovos e larvas de helmintos, e na objetiva de 40x onde foi possível observar estruturas como cistos e oocistos de protozoários. As análises eram realizadas em duplicata.

Os níveis de contaminação das culturas de alface (de cultivo tradicional e hidropônico) no período seco e chuvoso foram obtidos pelas médias mensais de enteroparasitas identificadas em cada amostra.

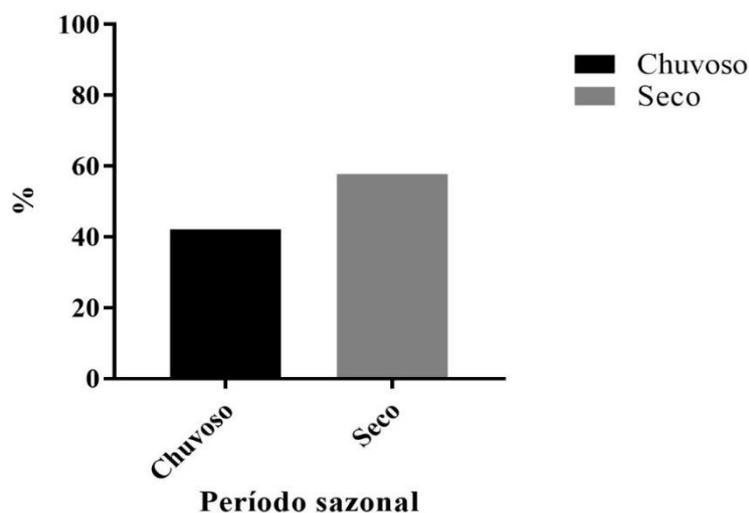
Com os resultados obtidos nos dois grupos de amostras (período seco e chuvoso), foi aplicado o teste do Qui-quadrado (X^2) para verificar a existência ou não

de diferenças significativas entre os níveis de contaminação dos dois grupos, em relação as formas enteroparasitárias encontradas. Foi adotado o nível de significância $\leq 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SAS versão nove (SAS, 2004).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos das amostras analisadas estão expressos na Figura 1, que mostra a taxa de contaminação enteroparasitária de acordo com os períodos estudados a partir de um total de 154 amostras obtidas das cinco feiras selecionadas. O período seco mostrou-se com 57,83% de contaminação enquanto no período chuvoso de 42,17%. É possível observar que a taxa de infecção é bem mais acentuada no período seco em relação ao período chuvoso.

Figura 1. Porcentagem de contaminação das alfaces coletadas das feiras livres de Rio Branco/AC por período sazonal.



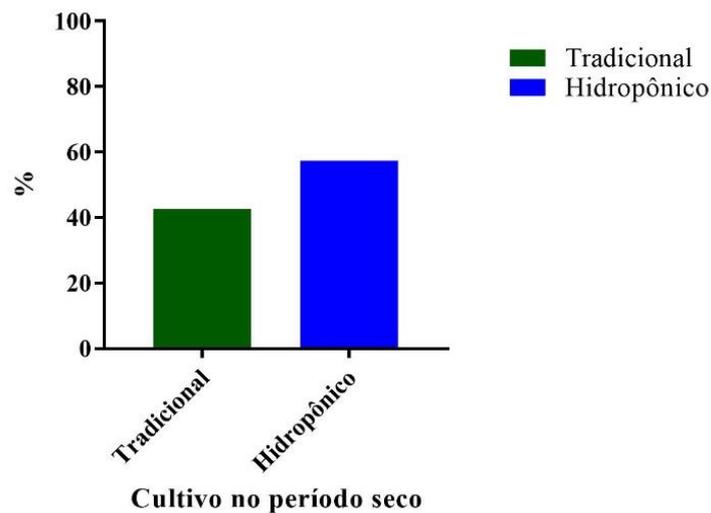
Fonte: Próprio autor.

Em consonância com Takayanagui *et al.*, (2007) os níveis de positividade para estruturas enteroparasitárias encontradas nas amostras são resultados de ações que propiciam a contaminação das hortaliças em suas várias etapas de produção, dentre elas: o plantio, o manejo, a colheita e até o transporte. Entretanto, um dos maiores fatores contribuintes para tal está ligado ao fato de que, com a chuva menos recorrente nesta época do ano, os agricultores têm uma maior necessidade de irrigação manual para que

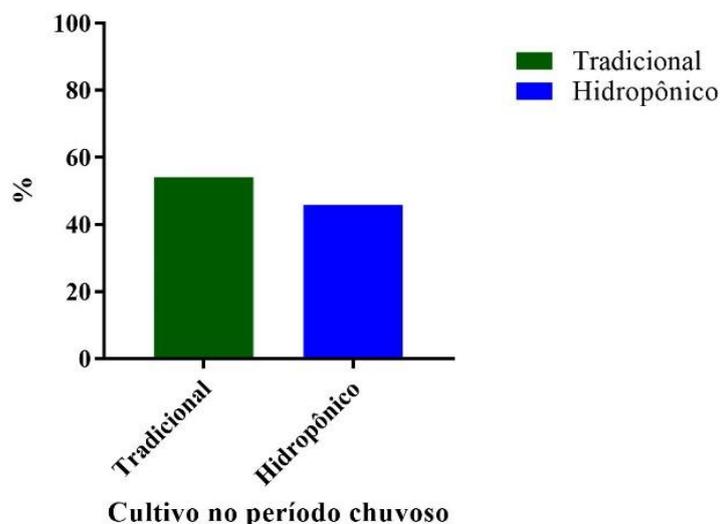
as folhas das hortaliças continuem seu desenvolvimento, o que muitas vezes a fonte da água já se encontra contaminada devido a presença de criadouros de animais domésticos próximos à fonte de água utilizada na irrigação (CUNHA&AMICHI, 2014). Também pelo fato de que no momento em que a água é despejada nas hortaliças, respingos de terra podem ficar impregnados nas folhas.

Para a comparação da frequência de enteroparasitas encontrados de acordo com os dois períodos estudados, temos a Figura 2, onde revela que a maior taxa de contaminação no período seco é da alface de cultivo hidropônico com 57,37% de contaminação. E que no período chuvoso a alface de cultivo tradicional tem maior número 54,10%.

Figura 2. Porcentagem de contaminação por cultivo e sazonalidade das amostras de alface coletadas de feiras livres de Rio Branco/AC.



Fonte: Próprio autor.



Fonte: Próprio autor.

Os achados com maiores índices de significância temos a *Fasciola hepática* que mostrou aumento (n=15) gradativo no período chuvoso nas amostragens de cultivo tradicional, em relação ao período seco. O ovo de *Ancilostomídeo sp.*, apresentou frequência diminuída (n=3) significativamente no período chuvoso nas alfaces de cultivo hidropônico (Tabela 1).

Tabela 1. Comparação dos períodos dentro de cada cultivo de alface coletadas de feiras livre.

	SECO	CHUVOSO	SIGNIFICÂNCIA
ALFACE TRADICIONAL			
<i>Ancilostomídeo Larva</i>	25	30	ns
<i>Ancilostomídeo Ovo</i>	12	12	ns
<i>Ascaris lumbricoides</i>	34	39	ns
<i>Fasciola hepática</i>	6	15	*
<i>H. nana</i>	3	3	ns
ALFACE HIDROPÔNICA			
<i>Ancilostomídeo Larva</i>	34	24	ns
<i>Ancilostomídeo Ovo</i>	19	3	**
<i>Ascaris lumbricoides</i>	34	24	ns
<i>Fasciola hepática</i>	12	16	ns

*Valores seguidos, representam diferença significativa no teste $\chi^2=3,85$ ($p<0,05$).

**Valores seguidos, representam diferença significativa no teste $\chi^2=11,54$ ($p<0,05$).

Dois dos enteroparasitas identificados nas análises foram encontrados somente no período seco nas amostras de cultivo tradicional, sendo elas a *Entamoeba coli* e a



Giardia lamblia, tendo assim frequência de n=100%. A comparação da frequência de positividade deste trabalho se associa com o de Oliveira & Germano (1992). Pois, os mesmos verificaram que no período chuvoso os percentuais de contaminação foram mais baixos. Sendo no período seco a alface tradicional tem a taxa de contaminação mais elevada de toda a pesquisa com um valor de 57,37%. No período chuvoso tem-se o valor de 54,10% nas alfaces de cultivo tradicional.

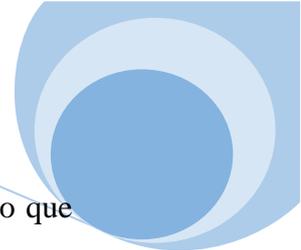
As comparações de alface dentro de cada período estudado, onde o parasito encontrado com maior índice de significância (n=12) é o ovo de *Ancilostomídeo sp.*, tendo sua maior frequência nas alfaces de cultivos tradicionais provenientes do período chuvoso (Tabela 2). Os resultados de Erdogrul & Sener (2005) apontam que os fatores que contribuem para essa maior contaminação no período de chuvas se dão pelo fato da alta pluviosidade no período de coleta das amostras.

Tabela 2. Comparação dos tipos de alfaces coletadas de feiras livre em cada período.

	TRADICIONAL	HIDROPÔNICA	SIGNIFICÂNCIA
SECO			
<i>Ancilostomídeo Larva</i>	25	27	ns
<i>Ancilostomídeo Ovo</i>	12	19	ns
<i>Ascaris lumbricoides</i>	34	34	ns
<i>Fasciola hepática</i>	6	12	ns
<i>Taenia sp.</i>	2	3	ns
CHUVOSO			
<i>Ancilostomídeo Larva</i>	30	20	ns
<i>Ancilostomídeo Ovo</i>	12	3	*
<i>Ascaris lumbricoides</i>	39	24	ns
<i>Fasciola hepática</i>	15	16	ns

*Valores seguidos, representam diferença significativa no teste x²= 5,4 (p<0,05).

Dois dos enteroparasitas identificados nas análises foram encontrados somente no período seco nas amostras de cultivo tradicional, sendo elas a *Entamoeba coli* e a *Giardia lamblia*, tendo assim frequência de n=100%. De acordo com Esteves e Figuerôa (2009) embora a *Entamoeba coli* não seja um organismo patogênico, quaisquer taxas de infecção por estes microrganismos são de grande importância, pois indicam que os indivíduos estão expostos à contaminação fecal. Com a observância de 100% de amostras positivas para esse microrganismo, reflete as condições higiênico-sanitárias, práticas de cultivo e a manipulação dos alimentos em que esses produtos são



realizados. No cultivo hidropônico não foram identificados nenhum protozoário, o que pode ter ligação direta com a sazonalidade, pois os mesmos foram bem menos encontrados também nas amostras de cultivo tradicional no mesmo período do ano.

Um fator que se opõe as outras pesquisas realizadas na área é o de que no período chuvoso há um maior índice de contaminação por conta de a água da chuva cair sob o solo fazendo com que partículas de terra fiquem aderidas as folhagens, contaminando-as. O que neste trabalho não se observa.

Além das características regionais de clima, ambiente, cultura e manejo agrícola discutidos neste trabalho, podemos também atribuir a manipulação inadequada por parte dos manipuladores de alimentos o que influencia a variabilidade na ocorrência de parasitos (ALVES *et al.*, 2013). Os benefícios proporcionados à saúde pelos vegetais atraem os consumidores que, ao ingerirem verduras cruas e contaminadas, se expõem ao risco de infecções e/ou infestações por parasitos (FALAVIGNA *et al.*, 2005).

Com isso, observou-se que apesar dos benefícios trazidos pela alface e por ela ser um alimento rico em fibras, sais minerais e vitaminas, o consumidor está exposto a uma série de problemas decorrentes de uma infecção por tais microrganismos presentes na hortaliça, onde anemias, diarreia e baixo rendimento nas atividades diárias, são apenas algumas delas.

De acordo com o Ministério de Saúde, nas últimas décadas em todo o país as doenças classificadas como DIP's (Doenças Infecciosas e Parasitárias) têm apresentado 10% das internações hospitalares, predominando as doenças infecciosas intestinais, mas regiões Norte e Nordeste.

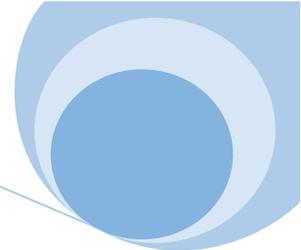
4. CONCLUSÃO

O estudo mostrou que houve a influência da sazonalidade sobre os níveis, a diversidade e a frequência de enteroparasitas nas alfaces de ambos os cultivos onde podemos destacar o período seco apresentando o maior índice de contaminação comparado ao período chuvoso sendo a alface de cultivo hidropônico de maior índice de contaminação no período seco e a alface de cultivo tradicional mais contaminada no período chuvoso. Dentre os parasitas encontrados, destacam-se os ovos de helmintos *Ancilostomídeo sp.*, *Fasciola hepática* e os protozoários *Entamoeba coli* e *Giardia lamblia*. Considerando este cenário, os resultados mostram as baixas condições

higiênico-sanitárias das alfaces comercializadas nas feiras livres de Rio Branco/AC. O que torna imprescindível a necessidade de orientação sobre a assepsia das verduras com alvo nos produtores e da população em geral que consome a hortaliça

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Uninorte pelo apoio neste estudo e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Acre - FAPAC pelo apoio financeiro.



5. REFERÊNCIAS

ALVES A. S.; *et al.* Parasitos em alface-crespa (*Lactuca Sativa*), de plantio convencional, comercializada em supermercados de Cuibá, Mato Grosso, Brasil. Revista de patologia tropical, v. 42, n. 2, p. 217-229, 2013.

CARVALHO P.G.O.; *et al.* Análises microbiológicas e parasitológicas de saladas verdes servidas em self-service no município de Crato, CE. Cadernos de Cultura e Ciência, v. 2, n.1, p. 20-30, 2010.

CUNHA L. F.; AMICHI K. R. Relação entre a ocorrência de enteroparasitoses e práticas de higiene de manipuladores de alimentos: Revisão da literatura. Saúde e Pesquisa, v. 7, p. 147-157, 2014.

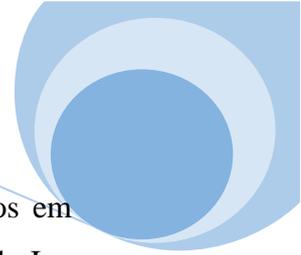
ERDOGRUL O.; SENER H. The contamination of various fruit and vegetable with *Enterobius vermicularis*, *Ascaris* eggs, *Entamoeba histolytica* cysts and *Giardia* cysts. Food Control, v. 16, n. 6, p. 557-560, 2005.

ESTEVES F. A. M.; FIGUEIRÔA E.O. Detecção de enteroparasitas em hortaliças comercializadas em feiras livres do município de Caruaru (PE). Revista Baiana de Saúde Pública, v. 33, n. 2, p. 38-47, 2009.

FALAVIGNA L.M.; *et al.* Qualidade de hortaliças comercializadas no noroeste do Paraná, Brasil. Parasitologia Latinoamericana, v. 60, n. 1, p. 144-149, 2005.

HOFFMAN W.A.; PONS J.A.; JANER J.L. The sedimentation concentration method in schistosomiasis. Puerto Rico Journal of Public Health, v., 9, p.281-298, 1934.

MONTANHER C. C.; *et al.* Avaliação parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em restaurantes self-service por quilo, da cidade de Curitiba, Paraná, Brasil. Estudos de Biologia, v. 29, n. 66, p. 63-71, 2007.



OLIVEIRA C.A.F.; GERMANO P.M.L. Estudo da ocorrência de enteroparasitos em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo – SP, Brasil. I – Pesquisa de helmintos. Revista Saúde Pública, v. 26, n.4, p. 283-289, 1992.

PACIFICO B.B.; *et al.* Contaminação parasitária em alfaces crespas (*Lactuca sativa* var. *crispa*), de cultivos tradicional e hidropônico, comercializadas em feiras livres do Rio de Janeiro (RJ). Revista Instituto Adolfo Lutz. v.72, n.3, p. 219-25, 2013.

PIRES D.R.; *et al.* Avaliação parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas no município do Rio de Janeiro (RJ). Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, v. 35, n. 1, p. 35-48, 2014.

SAS Institute Inc. 2004. What's New in SAS®9.0, 9.1, 9.1.2, and 9.1.3. Cary, NC: SAS Institute Inc.

TAKAYANAGUI O.M.; *et al.* Avaliação da contaminação de hortas produtoras de verduras após a implantação do sistema de fiscalização em Ribeirão Preto, SP. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 40, n.1, p. 239-241, 2007.