

Biomedicina e Farmácia: Aproximações

Fabício Loreni da Silva Cerutti

Cristiane Rickli Barbosa

Lais Daiene Cosmoski

(Organizadores)

 **Atena**
Editora

Ano 2018

Fabrcio Loreni da Silva Cerutti
Cristiane Rickli Barbosa
Lais Daiene Cosmoski
(Organizadores)

Biomedicina e Farmácia: Aproximações

**Atena Editora
2018**

2018 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Geraldo Alves e Natália Sandrini

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

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

B615	Biomedicina e farmácia: aproximações / Organizadores Fabrício Loreni da Silva Cerutti, Cristiane Rickli Barbosa, Lais Daiene Cosmoski. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2018. Inclui bibliografia ISBN 978-85-85107-20-8 DOI 10.22533/at.ed.208182808 1. Biomedicina. 2. Ciências médicas. 3. Farmácia. I. Cerutti, Fabrício Loreni da Silva. II. Barbosa, Cristiane Rickli. III. Cosmoski, Lais Daiene. CDD 610
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

O conteúdo do livro e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2018

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

E-mail: contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Em ciências da saúde destacam-se as áreas de Farmácia e Biomedicina. Desta forma, torna-se imprescindível o conhecimento acerca de análise clínicas e biotecnologia de fármacos.

A Coletânea Nacional “A Biomedicina e Farmácia Aproximações” é um e-book composto por 21 artigos científicos que abordam assuntos atuais, como a análise de produtos naturais, biotecnologia de fármacos, processos de isolamento, purificação caracterização de elementos biotecnológicos de fontes naturais, avaliação da utilização de novas tecnologias para fins farmacêuticos, avanços em análises clínicas, entre outros.

Mediante a importância, necessidade de atualização e de acesso a informações de qualidade, os artigos elencados neste e-book contribuirão efetivamente para disseminação do conhecimento a respeito das diversas áreas da farmácia e da biomedicina, proporcionando uma visão ampla sobre esta área de conhecimento.

Desejo a todos uma excelente leitura!

Prof. MSc. Fabrício Loreni da Silva Cerutti

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO AÇAI (<i>EUTERPE OLERACEA</i>)	
<i>Maria Gabrielle de Oliveira Tabosa</i>	
<i>Jamicelly Rayanna Gomes da Silva</i>	
<i>Yasmim Dayane Leal Paixão</i>	
<i>Alane Alexandra da Silva Oliveira</i>	
<i>Maria Adriana Ferreira Farias</i>	
<i>Risonildo Pereira Cordeiro</i>	
<i>Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo</i>	
CAPÍTULO 2	9
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE EXTRATOS DE <i>CYMBOPOGON CITRATUS</i> PARA PRODUÇÃO DE XAROPE COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	
<i>Marília Gomes dos Santos</i>	
<i>Mayludson Moreira de Andrade</i>	
<i>Cynthia Gisele de Oliveira Coimbra</i>	
<i>Risonildo Pereira Cordeiro</i>	
CAPÍTULO 3	19
EFEITOS TERAPÊUTICOS DO FRUTO DA ACEROLEIRA (<i>MALPIGHIA GLABRA L.</i>)	
<i>Brunna Larissa de Souza Melo Ferreira</i>	
<i>Maria Eduarda Silva Amorim</i>	
<i>Joice Luiza Pereira da Silva</i>	
<i>Maria Fernanda Ferreira de Lima</i>	
<i>Yago Eudvan Neves</i>	
<i>Vanessa Camylla Bernardo de Oliveira</i>	
<i>Risonildo Pereira Cordeiro</i>	
<i>Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo</i>	
CAPÍTULO 4	27
ESTUDO DO EFEITO CITOTÓXICO DA CURCUMINA EM PRESENÇA DE ANTIOXIDANTES SOBRE LINHAGEM DE CÉLULAS TUMORAIS HRT-18	
<i>Daniel Brustolin Ludwig</i>	
<i>Thaysa Ksiaskiewicz Karam</i>	
<i>Katia Sabrina Paludo</i>	
<i>Rubiana Mara Mainardes</i>	
<i>Najeh Maissar Khalil</i>	
CAPÍTULO 5	38
NEUROTOXICIDADE INDUZIDA PELA CARAMBOLA (<i>AVERRHOA CARAMBOLA L.</i>) EM PACIENTES QUE APRESENTAM LESÃO RENAL	
<i>Yasmim Dayane Leal Paixão</i>	
<i>Jamicelly Rayanna Gomes da Silva</i>	
<i>Maria Eduarda Silva Amorim</i>	
<i>Joice Luiza Pereira da Silva</i>	
<i>Izabella Cinthia Tôrres de Vasconcelos</i>	
<i>Risonildo Pereira Cordeiro</i>	
<i>Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo</i>	

CAPÍTULO 6 45

TOXICIDADE DE *ECHINACEA PURPUREA* FRENTE À *ARTEMIA SALINA*

Denise Michelle Indras
Julio Cezar dos Santos
Priscila da Caz
Victor Mateus Prasniewski
Fernanda Coleraus Silva
Ana Maria Itinose

CAPÍTULO 7 53

CARACTERIZAÇÃO DE INFECÇÃO PULMONAR EXPERIMENTAL POR *PAECILOMYCES VARIOTII* EM ANIMAIS NORMAIS E IMUNOCOMPROMETIDOS

Isaac Loreiro Cabral
Izabela Virgínia Staffen
José Henrique Fermino Ferreira dos Santos
Thiago Oliveira dos Santos
Eduardo Alexandre Loth
Rafael Andrade Menolli

CAPÍTULO 8 63

LECTINAS VEGETAIS COMO FERRAMENTAS TERAPÊUTICAS: UMA REVISÃO

Juliete Lira de Souza Lima
Isabella Coimbra Vila Nova
Welton Aaron de Almeida
Jeine Emanuele Santos da Silva
Emmanuel Viana Pontual
Joaquim Evêncio Neto

CAPÍTULO 9 79

ABORDAGENS DAS DOENÇAS TROPICAIS NEGLIGENCIADAS

Suelem Leite da Silva
Dagoberto Riva
Simona Renz Baldin
Sônia de Lucena Mioranza

CAPÍTULO 10 90

AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE FERRITINA E COLESTEROL LDL EM PACIENTES ATENDIDOS PELO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DO OESTE DO PARANÁ

Fernanda Weyand Banhuk
Dayane Bassotto da Costa
Taimara Brustolin
Taise Regina Ficagna
Thiago Luiz Fucuta de Moraes

CAPÍTULO 11 98

OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE ELLMAN PARA A DETERMINAÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE EM ERITRÓCITOS

Fabiana Sari Ferreira
Fernanda Coleraus Silva
Ana Maria Itinose
Carla Brugin Marek

CAPÍTULO 12 104

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A STABILITY INDICATING HPLC METHOD FOR DETERMINATION OF DAPAGLIFLOZIN IN TABLETS

Rafaela Zielinski Carvalho de Meira
Larissa Sakis Bernardi
Paulo Renato de Oliveira

CAPÍTULO 13 105

O EMPREGO DA CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE) NA DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS PARA RASTREAMENTO DE DOENÇAS

Irthylla Nayalle da Silva Muniz
Alane Alexandra da Silva Oliveira
Izabella Cinthia Tôrres Vasconcelos
Júlia Samara Ferreira da Silva
Layza Fernanda Gomes Bezerra
Raíssa Ferreira Soares
José Carlos Bernardo da Silva Filho
Carlos Eduardo Miranda de Sousa

CAPÍTULO 14 110

EFICIÊNCIA DA MICROENCAPSULAÇÃO DE PROBIÓTICOS ATRAVÉS DA TÉCNICA DE *SPRAY DRYING*

Rosane Vaniski
Cristiane Canan
Deisy Alessandra Drunkler

CAPÍTULO 15 123

ANÁLISE DA QUALIDADE DE CÁPSULAS DE AMOXICILINA, COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE PALMARES –PE.

Letícia Emanuele de Farias Barros
Ádila Priscila Felix do Nascimento
Stephanny de Fátima Alves da Silva
Ana Catarina Simonetti
Risonildo Pereira Cordeiro

CAPÍTULO 16 132

ANÁLISE DA ROTULAGEM DE PRODUTOS NUTRACÊUTICOS CONTENDO ÔMEGA-3 COMERCIALIZADOS EM CELEIROS DA CIDADE DE CASCAVEL-PR

Simona Renz Baldin
Gabrielle Racoski Custódio
Jaqueline Franciele Caetano de Oliveira
Luciana Oliveira de Fariña

CAPÍTULO 17 143

INATIVAÇÃO DE CONSERVANTES DE CREMES COMERCIAIS CONTENDO PROBIÓTICOS PARA AVALIAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE SUA VIABILIDADE

Ana Caroline da Costa
Luciana Oliveira de Fariña
Suzana Bender
Helena Teru Takahashi Mizuta

CAPÍTULO 18	148
FORMAÇÃO DE BIOFILMES POR LEVEDURAS PATOGÊNICAS	
<i>Izabel Almeida Alves</i>	
<i>Luciana Teresinha Adams Langer</i>	
<i>Raiza Lima do Carmo</i>	
<i>Keli Jaqueline Staudt</i>	
CAPÍTULO 19	169
BIOSSEGURANÇA NOS CENTROS DE EMBELEZAMENTO E ESTÉTICA DO MUNICÍPIO DE CASCAVEL- PR	
<i>Vanessa Bordin</i>	
<i>Débora Cristina Ignácio Alves</i>	
<i>Leda Aparecida Vanelli Nabuco de Gouvêa</i>	
<i>Maristela Salete Maraschin</i>	
CAPÍTULO 20	180
DESENVOLVIMENTO DE PLANO OPERATIVO PARA PROMOÇÃO DO USO RACIONAL DE ANTIMICROBIANOS NA FARMÁCIA BÁSICA DE UM MUNICÍPIO DO MARANHÃO: RELATO DE EXPERIÊNCIA	
<i>Nágila Caroline Fialho Sousa</i>	
<i>Isabella Fernandes da Silva Figueiredo</i>	
<i>Mizael Calácio Araújo</i>	
<i>Saulo José Figueiredo Mendes</i>	
CAPÍTULO 21	190
AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE DESINFECÇÃO DE ARTIGOS SEMICRÍTICOS EM UM HOSPITAL ESCOLA	
<i>Jéssica Rosin</i>	
<i>Fabiana Gonçalves de Oliveira Azevedo Matos</i>	
<i>Debora Cristina Ignácio Alves</i>	
<i>Fabiana Severino Kupka</i>	
<i>Jéssica Martins Valter</i>	
<i>Adriana Souza</i>	
SOBRE OS ORGANIZADORES	201

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO AÇAÍ (*EUTERPE OLERACEA*)

Maria Gabrielle de Oliveira Tabosa

Centro Universitário Tabosa de Almeida - Asces-
Unita
Caruaru - Pernambuco

Jamicelly Rayanna Gomes da Silva

Centro Universitário Tabosa de Almeida- Asces-
Unita
Caruaru-Pernambuco

Yasmim Dayane Leal Paixão

Centro Universitário Tabosa de Almeida- Asces-
Unita
Caruaru-Pernambuco

Alane Alexandra da Silva Oliveira

Centro Universitário Tabosa de Almeida- Asces-
Unita
Caruaru-Pernambuco

Maria Adriana Ferreira Farias

Centro Universitário Tabosa de Almeida- Asces-
Unita
Caruaru-Pernambuco

Risonildo Pereira Cordeiro

Centro Universitário Tabosa de Almeida- Asces-
Unita
Caruaru-Pernambuco

Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo

Centro Universitário Tabosa de Almeida- Asces-
Unita
Caruaru-Pernambuco

típica do Norte do Brasil, pertence à família *Arecaceae* e possui uma coloração escura. Vários estudos científicos apontam que o elevado consumo deste alimento proporciona efeitos benéficos à saúde como a prevenção de doenças crônicas cuja causa primária está relacionada ao estresse oxidativo. As antocianinas são moléculas responsáveis pela pigmentação característica do açaí, reguladoras da expressão de adipocitocinas e antioxidantes. Os antioxidantes presentes nessa planta combatem o radical livre superóxido que causam danos às estruturas celulares de forma direta ou indireta, essa atividade previne contra aterosclerose e o envelhecimento precoce. Estudos demonstram que os habitantes do Norte do Brasil apresentam altas taxas antioxidantes em sua dieta, o que previne contra doenças associadas a radicais livres. Conclui-se que os benefícios do açaí são vastos por seu grande potencial em contribuir para a homeostasia, proporcionar atividades antioxidantes e prevenir contra possíveis patologias. Também caracteriza-se como vital explorar suas outras propriedades além de energético natural que é disseminado pela população. O presente capítulo trata-se de uma revisão literária, onde a seleção de artigos foi feita através de busca bibliográfica referente aos anos de 1996 a 2018, na língua inglesa. Utilizaram-se as bases de dados: Science Direct, Portal CAPES, Scielo,

RESUMO: O açaí (*Euterpe oleracea*), fruta

Lilacs com os descritores: açáí, mecanismo de ação antioxidante e *Euterpe oleracea*, bem como monografias desenvolvidas pelo Centro de Informações Sobre Plantas Medicinais (CIPLAM), localizado no Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita)

PALAVRAS-CHAVE: Açáí; Antioxidante; Radicais livres; *Euterpe oleracea*.

ABSTRACT: Açáí (*Euterpe oleracea*), a native fruit from the North of Brazil, belongs to the *Arecaceae* family and has a dark colour. Several scientific studies indicate that a high consumption of this food provides beneficial health effects such as the prevention of chronic diseases that are mainly related to oxidative stress. Anthocyanins are molecules responsible for the characteristic pigmentation of açáí and for regulating the expression of adipocytokines and antioxidants. The antioxidants present in this plant act against the superoxide free radical that leads to structural cell damage in an either direct or indirect manner. This activity prevents atherosclerosis and premature aging. Studies show that Northern Brazilian dwellers present high levels of antioxidants in their diets, which prevents diseases associated with free radicals. It is concluded that the açáí has a wide range of benefits due to its great potential in contributing to homeostasis, providing antioxidant activities and preventing possible pathologies. It is also vital to explore its other properties besides its use as a natural energetic, which is disseminated by the population. This chapter is a literature review, in which the selection of articles was made through bibliographic search in the English language, covering the years from 1996 to 2018. The databases used were: Science Direct, CAPES Portal, Scielo and Lilacs, via the descriptors: açáí, antioxidant mechanism of action and *Euterpe oleracea*, as well as monographies developed by the Medicinal Plants Information Center (CIPLAM), located at the Tabosa de Almeida University Center (Asces-Unita).

KEYWORDS: Açáí; Antioxidant; Free radical; *Euterpe oleracea*.

1 | INTRODUÇÃO

A *Euterpe oleracea* é popularmente conhecida como açáí em todo Brasil e pertencente à família *Arecaceae*. É um fruto comum em toda região norte do país, sendo a floresta amazônica e o Pará os maiores produtores e consumidores do fruto (KEN-ITI YOKOMIZO et al., 2016). O açazeiro conhecido também como açáí-do-pará, açáí-do-baixo-amazonas e juçara é considerado o vegetal mais relevante do gênero *Euterpe* (OLIVEIRA et al., 2002). Originária da zona norte, a palmeira que produz o açáí mede em torno de 16 metros de altura, produz touceiras com até 25 estipes e frutos bem aceitos pela população local em função da sua capacidade energética (BARBOSA et al., 2016).

A polpa do açáí contém quantidades significativas de uma classe distinta de flavonoides: as antocianinas, os quais atribuem às propriedades antioxidantes ao fruto, incentivando estudos internacionais com base em sua fitoquímica (BERNAUD &

FUNCHAL, 2011). Além da ação antioxidante já citada, atividades como antiproliferativa, anti-inflamatória e antimicrobiana também são atribuídas às antocianinas (PORTINHO et al., 2012). Elas são ainda, responsáveis pela coloração vermelho-escuro característica da polpa.

O açaí foi analisado frente a sua interação com espécies reativas de oxigênio presentes no corpo humano, responsáveis pela peroxidação de lipídios de membrana, agressão às proteínas dos tecidos, membranas, enzimas e DNA, desencadeando inúmeras doenças (BERNAUD & FUNCHAL, 2011). Com a produção elevada dessas espécies reativas, o organismo não consegue produzir substâncias que supram a demanda para impedir os efeitos da oxidação, dessa forma, é gerado um estresse oxidativo (PORTINHO et al., 2012). Para responder a esses prejuízos são utilizados agentes antioxidantes que podem ser adquiridos endogenamente ou através da dieta, como, por exemplo, no consumo de açaí (BERNAUD & FUNCHAL, 2011). Esta planta vem sendo valorizada desde os anos 90 pelo seu valor nutricional, porém, seu consumo não é muito recorrente *in natura*, mas sob a forma de polpa (NOGUEIRA et al., 2005).

2 | METODOLOGIA

O trabalho em questão foi baseado em pesquisas descritivas bibliográficas com a finalidade de realizar um estudo retrospectivo através da literatura científica sobre a atividade antioxidante encontrada na *Euterpe oleracea*. Os trabalhos foram selecionados através das bases de dados: Science Direct, Portal CAPES, Scielo e Lilacs com os descritores: açaí, mecanismo de ação antioxidante e *Euterpe oleracea* e foram utilizadas também literaturas complementares localizadas em monografias desenvolvidas pelo projeto de extensão universitária Centro de Informações sobre Plantas Mediciniais (CIPLAM) presente no Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita).

Esta revisão apresentou como critérios de inclusão artigos originais, revisões de literatura, dissertações e teses escritas na língua inglesa e portuguesa datados dos anos 1996 a 2018. Publicações estas que referiam-se aos radicais livres, mecanismo de ação antioxidante, *Euterpe oleracea* e as antocianinas.

3 | ANÁLISES E DISCUSSÃO

3.1 Estresse oxidativo e radicais livres

O estresse oxidativo é caracterizado quando o corpo humano produz radicais livres em excesso, um fenômeno prejudicial causado pelo desequilíbrio entre a produção e o consumo destas moléculas (PARHIZ et al., 2015; ROLEIRA et al., 2015). As Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), também denominadas radicais livres, são

moléculas muito conhecidas que se formam durante o metabolismo e desempenham papéis importantes na sinalização celular (SOSA-TORRES, SAUCEDO-VÁZQUEZ & KRONECK, 2015). Graças a sua alta reatividade, elas podem se ligar a biomoléculas, causando uma ampla variedade de doenças (YANG et al., 2014; ARUNA & AMBIKA DEVI, 2014; SHADAB et al., 2014). Os níveis de EROs no corpo humano podem aumentar drasticamente devido a estresse, radiação ultravioleta, presença de íons metálicos ou muitos outros fatores, como exposição ao calor (MICHAIL et al., 2013; VEJERANO, LOMNICKI, DELLINGER, 2012; VALENCIA-ISLAS, ZAMBRANO & ROJAS, 2007).

3.2 *Euterpe oleracea* e sua ação como agente antioxidante

A *Euterpe oleracea* conhecida popularmente como açazeiro tem como ação principal antioxidante devido à presença de antocianinas em sua composição. Em seu fruto, a polpa apresenta um alto valor nutricional, sendo considerada base alimentar em populações do Estado do Pará e Amapá. As regiões do Sul do Brasil vem se mostrando grandes consumidores deste fruto, pela sua variância na cozinha, tanto em alimentos salgados quanto doces e pelas características energéticas (YOKOMIZO et al., 2016). As pesquisas em relação ao seu cultivo são escassas e contraditórias pelas comparações da produtividade dos açazeiros nativos e por hortas com sementes de procedências desconhecidas (OLIVEIRA et al., 2002) e o seu processo de propagação mais comum é através de sementes, além da propagação assexuada.

O açazeiro inicia a floração após quatro anos de plantio e quando está em condições ideais de cultivo pode iniciar-se com dois anos e meio, tendo sido provenientes de cuidados com o solo, irrigação e controle de pragas, sendo o primeiro cacho colhido com três anos e meio de plantio (OLIVEIRA et al., 2002). Depois que iniciar seu ciclo reprodutivo, o açaí flora e frutifica por quase o ano todo, onde meses de períodos mais chuvosos caracterizam-se como os de maior frutificação (PORTINHO et al., 2012).

A composição química desta espécie contém lipídios, proteínas, glicose e sacarose e o seu valor nutricional está envolvido com os minerais, principalmente potássio e cálcio e, dentre as vitaminas, pode ser destacada a vitamina E, um antioxidante natural que atua na eliminação dos radicais livres (NOGUEIRA et al., 2005). Também existe a contribuição na ação antioxidante de outros compostos fenólicos encontrados na polpa do açaí, dentre eles podemos citar: ácido ferúlico, epicatequina e ácido p-hidroxibenzóico (SILVA et al., 2017). Esta ação pode alcançar os causadores de aterosclerose, o protegendo dos acúmulos de placas de depósito de lipídeos na corrente sanguínea (MACHADO et al., 2018).

Os sistemas antioxidantes podem ter origem endógena (por exemplo superóxido dismutase), ou serem provenientes da dieta alimentar e outras fontes. Destas últimas destacam-se tocoferóis (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), polifenóis, selênio, carotenóides e antocianinas (HASLAM, 1996; OMONI; ALUKO, 2004; SOUZA, 2005).

Os antioxidantes são moléculas capazes de estabilizar ou desativar radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células, além de prevenir o estresse oxidativo. Dois processos estão envolvidos na eliminação de radicais livres para prevenir o estresse oxidativo: reação direta com EROs (sequestradores primários de radicais livres) ou reação com espécies que geram radicais livres prevenindo a produção de EROs (antioxidantes secundários) (AVELAR & MARTÍNEZ, 2012).

Para evitar os danos causados pelos radicais livres, o organismo desenvolveu vários mecanismos de defesa, isto é, potenciais de neutralização das ações dos mesmos, chamados de antioxidantes. Essas moléculas foram estudadas extensivamente e apresentaram vários efeitos positivos na saúde humana (PARHIZ et al., 2015; ROLEIRA et al., 2015). Os agentes antioxidantes são definidos como moléculas que sofrem oxidação em detrimento de outras que seriam importantes no estado de oxidação natural. Estão em permanente atividade no organismo em quantidades suficiente para neutralizar os efeitos dos radicais livres normalmente produzidos (BELLÓ et al., 2002).

3.3 Antocianinas

O açaí possui elevado teor de antocianinas, contendo cerca de 1,02 a 100g no extrato seco (NOGUEIRA et al., 2005) estas são moléculas responsáveis pela pigmentação natural do fruto do açaí, pela atividade reguladora da expressão de adipocitocinas e da ação antioxidante (BERNAUD et al., 2011). As moléculas antocianinas tem natureza glicosídica e possuem estabilidade relativamente baixa o que facilita a degradação por luz, pH, temperatura, por algumas enzimas, oxigênio e ácido ascórbico. Quando expostas a altas temperaturas e luz apresentam a coloração marrom (MACHADO et al., 2018).

As antocianinas podem ser medida através de espectrofotômetro onde essa técnica não reflete a cor quando mede a absorbância, podendo ser utilizado o colorímetro de Hunter no controle de qualidade, permitindo observar a concentração do pigmento imediatamente (COSTA et al., 2015). As antocianinas são formadas a partir da chalconas, flavonoides glicosídicos e sua biossíntese é um dos últimos estados de oxidação no mecanismo de diferenciação dos flavonoides. A coloração destas é influenciada pela substituição dos grupos hidroxilo e metoxilo (SOUSA, 2017).

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir das observações feitas sobre a atividade antioxidante do açaí, além de seus outros benefícios expostos, conclui-se que a espécie em questão dispõe de grande potencial para a homeostasia do organismo. Foi possível perceber a importância de estudos sobre frutos e plantas medicinais, seja para busca de novas moléculas, para aprofundamento sobre toxicidade ou para inovação de soluções terapêuticas, visto que, cada espécie traz dentro de si uma grande diversidade e possibilidades que

devem ser cada vez mais estudadas.

Em relação a *Euterpe oleracea*, além de seu uso como energético natural já disseminado, é de fundamental importância que suas e outras propriedades sejam exploradas, por ser uma fruta que vem conquistando cada vez mais consumidores por seu sabor e nutrientes presentes. Tratando-se de uma fruta tipicamente brasileira, se tem muito a ganhar no âmbito do mercado nacional e internacional por seu cultivo e comercialização, além dos benefícios a saúde que já vem sendo de boa repercussão entre os estudiosos.

REFERÊNCIAS

ARUNA, G., & DEVI, K. A. Oxidative stress in chronic renal failure. **Int. J. Pharma Bio Sci**, v. 5, p. B127-B133, 2014.

AVELAR, M., & MARTÍNEZ, A. Do Casiopeinas® prevent cancer disease by acting as antiradicals? A chemical reactivity study applying density functional theory. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 56, n. 3, p. 250-256, 2012.

BARBOSA, P. O., PALA, D., SILVA, C. T., DE SOUZA, M. O., DO AMARAL, J. F., VIEIRA, R. A. L. & DE FREITAS, R. N. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp dietary intake improves cellular antioxidant enzymes and biomarkers of serum in healthy women. **Nutrition**, v. 32, n. 6, p. 674-680, 2016.

BELLÓ, A. Dano oxidativo e regulação biológica pelos radicais livres. **MARRONI, NP et al. Estresse Oxidativo e Antioxidantes. Porto Alegre: Editora Ulbra**, p. 15-19, 2002.

BERNAUD, R. F. S., & FUNCHAL, C. D. S. Atividade antioxidante do açaí. **Nutrição Brasil**, v. 10, n. 5, p. 310-316, 2011.

COSTA, Z. G., COSTA, C. M. L., MARIA, L., & FARIA, L. J. G. D. Estudo Da Estabilidade De Antocianinas Extraídas Dos Frutos De Açai (*Euterpea Oleracea* Mart.). **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, n. 3, p. 2177-2182, 2015.

FERREIRA, A. L. A., & MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da associação médica brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. **Journal of natural products**, v. 59, n. 2, p. 205-215, 1996.

KEN-ITI YOKOMIZO, G., MOCHIUTTI, S., LEITE DE QUEIROZ, J. A., REIS DOS SANTOS, G., GOMES FURTADO, R., PEREIRA BRANDÃO, A., & BEZERRA COLARES, I. Estimativas de parâmetros genéticos para caracteres de frutos em açaizeiros no Amapá. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 3, 2016.

MACHADO, Ana Luísa Figueredo et al. QUANTIFICAÇÃO DE ANTOCIANINAS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM CÁLICE DE HIBISCO IN NATURA. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 9, n. 3, 2018.

MATIAS DOS SANTOS, G., ARRAES MAIA, G., MACHADO DE SOUSA, P. H., CORREIA DA COSTA, J. M., WILANE DE FIGUEIREDO, R., & MATIAS DO PRADO, G. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). **Archivos latinoamericanos de nutricion**, v. 58, n. 2, p. 187-192, 2008.

MICHAIL, K., BAGHDASARIAN, A., NARWALEY, M., ALJUHANI, N., & SIRAKI, A. G. Scavenging of free-radical metabolites of aniline xenobiotics and drugs by amino acid derivatives: toxicological implications of radical-transfer reactions. **Chemical research in toxicology**, v. 26, n. 12, p. 1872-1883, 2013.

NOGUEIRA O.L., FIGUEIRÊDO F.J.C., MÜLLER A.A. **Açaí. Belém: Embrapa Amazônia Oriental**. p. 137, 2005.

OLIVEIRA, M., DE CARVALHO, J. E. U., DO NASCIMENTO, W. M. O., & MULLER, C. H. Cultivo do açaizeiro para produção de frutos. **Embrapa Amazônia Oriental. Circular técnica**, 2002.

OMONI, A. O., & ALUKO, R. E. The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, n. 8, p. 344-350, 2005.

PARHIZ, H., ROOHBAKHSH, A., SOLTANI, F., REZAEI, R., & IRANSHAHI, M. Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: an updated review of their molecular mechanisms and experimental models. **Phytotherapy research**, v. 29, n. 3, p. 323-331, 2015.

PORTINHO, J. A., ZIMMERMANN, L. M., & BRUCK, M. R. Efeitos benéficos do açaí. **International Journal of Nutrology**, v. 5, n. 1, p. 15-20, 2012.

ROLEIRA, F. M., TAVARES-DA-SILVA, E. J., VARELA, C. L., COSTA, S. C., SILVA, T., GARRIDO, J., & BORGES, F. Plant derived and dietary phenolic antioxidants: Anticancer properties. **Food Chemistry**, v. 183, p. 235-258, 2015.

SHADAB, M., AGRAWAL, D. K., ASLAM, M., ISLAM, N., & AHMAD, Z. Occupational health hazards among sewage workers: Oxidative stress and deranged lung functions. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 8, n. 4, p. BC11, 2014.

SILVA, A.K.N., BECKMAN, J.C., RODRIGUES, A.M.C., SILVA, L.H.M. Avaliação da composição nutricional e capacidade antioxidante de compostos bioativos da polpa de açaí, **R. bras. Tecnol. Agroindustr.**, Ponta Grossa, v. 11, n. 1: p. 2205-2216, jan./jun. 2017.

SOSA-TORRES, M., SAUCEDO-VÁZQUEZ, J. P., & KRONECK, P. M. The magic of dioxygen. **Metal ions in life sciences**, v. 15, p. 1-12, 2015.

SOUSA, Andreia Catarina Ribeiro. **Desenvolvimento de um alimento funcional com subprodutos de sabugueiro: caracterização química e bioativa**. 2017. Tese de Doutorado.

SOUZA, G. I. L. E. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATO ETANÓLICO E HIDROALCOÓLICO DE "CANJIQUEIRA" (*Byrsonima orbygniana*). DOSEAMENTO DE RUTINA, QUERCETINA, ÁCIDO ELÁGICO E ÁCIDO ASCÓRBICO. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2. 2005.

VALENCIA-ISLAS, N., ZAMBRANO, A., & ROJAS, J. L. Ozone reactivity and free radical scavenging behavior of phenolic secondary metabolites in lichens exposed to chronic oxidant air pollution from Mexico City. **Journal of Chemical Ecology**, v. 33, n. 8, p. 1619-1634,

2007.

VEJERANO, E., LOMNICKI, S., & DELLINGER, B. Lifetime of combustion-generated environmentally persistent free radicals on Zn (II) O and other transition metal oxides. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 14, n. 10, p. 2803-2806, 2012.

YANG, S. K., XIAO, L., LI, J., LIU, F., & SUN, L. Oxidative stress, a common molecular pathway for kidney disease: role of the redox enzyme p66Shc. **Renal failure**, v. 36, n. 2, p. 313-320, 2014.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE EXTRATOS DE *CYMBOPOGON CITRATUS* PARA PRODUÇÃO DE XAROPE COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Marília Gomes dos Santos

Hospital do Tricentenário,
Departamento: Hospital Mestre Vitalino – HMV
Caruaru – PE

Mayludson Moreira de Andrade

Hospital Municipal Adolpho Pereira Carneiro –
HMAPC,
Departamento: Laboratório de Análises Clínicas
São Caetano – PE

Cynthia Gisele de Oliveira Coimbra

Centro Universitário Tabosa de Almeida – ASCES-
UNITA
Caruaru – PE

Risonildo Pereira Cordeiro

Centro Universitário Tabosa de Almeida – ASCES-
UNITA
Caruaru – PE

RESUMO: No presente estudo objetivou-se determinar a ação antimicrobiana de extratos de *Cymbopogon citratus*, frente às cepas de *Staphylococcus MSSA*; *Staphylococcus epidermidis*; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Salmonella choleraesuis*; e *Candida albicans*; e produzir um xarope à base de *Cymbopogon citratus* com atividade antimicrobiana. Os métodos utilizados para obtenção dos extratos foram turbólise e maceração, logo após foi

adicionado como solvente o etanol em duas concentrações (70 e 96%). Foram realizados os seguintes testes microbiológicos: Determinação da Concentração Inibitória Mínima – CIM; e Determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência – CIMA, com as concentrações 12,5; 25; 50; e 100% dos extratos. Os resultados mostraram divergências de cor, aspecto e rendimento entre os extratos obtidos. As análises microbiológicas não evidenciaram potencial bactericida, bacteriostático ou antifúngico. Conclui-se que os extratos do *Cymbopogon citratus* não apresentam atividade antimicrobiana, devido à baixa concentração do *citral*, princípio ativo presente na planta. Entretanto a atividade antimicrobiana é evidenciada em óleos essenciais, que possuem maior concentração de *citral*.

PALAVRAS-CHAVE: *Cymbopogon citratus*, plantas medicinais, capim-santo.

ABSTRACT: In the present study the objective was to determine the antimicrobial action of extracts of *Cymbopogon citratus*, against *Staphylococcus* strains MSSA; *Staphylococcus epidermidis*; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Salmonella choleraesuis*; E *Candida albicans*; And produced a syrup based on *Cymbopogon citratus* with antimicrobial activity. The methods used to obtain extracts of turbines and

maceration, soon after their development as solvent and two concentrations (70 and 96%). The following microbiological tests were performed: Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC); E Determination of the Minimum Inhibitory Adhesion Concentration (CIMA), with concentrations 12.5; 25; 50; And 100% of extracts. The results showed differences of color, appearance and yield among the obtained extracts. Microbiological analyzes showed no bactericidal, bacteriostatic or antifungal potential. It is concluded that extracts of *Cymbopogon citratus* are not an antimicrobial activity, due to a low concentration of citral, active principle present in the plant. However, an antimicrobial activity is evidenced in essential oils, which has a higher concentration of citral.

KEYWORDS: *Cymbopogon citratus*, medicinal plants, grass holly, lemon grass.

1 | INTRODUÇÃO

O *Cymbopogon citratus*, conhecido popularmente como capim-limão, capim-santo, capim-cidreira, entre outros, pertence à família *Poaceae* e é originário da Índia. Apresenta um óleo essencial, denominado internacionalmente como “lemon grass”, amplamente utilizado para fins medicinais, indústrias farmacêuticas, alimentícias, cosméticas e perfumaria, bem como para obtenção do citral, o principal componente do seu óleo (Martinazzo, 2007).

As propriedades antimicrobianas de substâncias presentes em extratos e óleos essenciais extraído de plantas são reconhecidas empiricamente há séculos, e foram comprovadas cientificamente. Estudos sobre as atividades antimicrobianas de extratos e óleos essenciais de plantas nativas têm sido relatados em muitos países tais como: Brasil, Cuba, Índia, México e Jordânia, que possuem uma flora diversificada e uma rica tradição na utilização de plantas medicinais para uso como antibacteriano ou antifúngico. (DUARTE, 2006).

A ação antimicrobiana presente nas plantas deve-se a capacidade de produzirem substâncias antimicrobianas, conhecidas como fitocidas (substâncias semelhantes a antibióticos). Entretanto a maioria dos vegetais utilizados como fitoterápicos populares não possuem sua atividade antimicrobiana comprovada. É necessária a realização de estudos que forneçam parâmetros confiáveis que comprovem o real potencial antimicrobiano (Gonçalves, 2005).

As folhas do *Cymbopogon citratus* (*C. citratus*) são ricas em óleos essenciais, contendo principalmente *citral* (Gomes, 2003), cujo fora observada atividade antibacteriana frente a cepas isoladas de infecção urinária (Pereira, 2004), efeito antígenotóxico (Cápiro, 2001) e ação antifúngica contra *Candida albicans*. Apresenta odor característico de limão, sabor aromático e ardente, e coloração verde-pálida (GOMES, 2003).

O *Cymbopogon citratus* possui constituintes químicos como: triterpenos, óleo volátil, flavonóides, alcalóides, taninos, dentre outros, ricos em citral e mirceno.

Dados farmacológicos apresentam extratos aquosos e etanólico das folhas com efeito antinociceptivo, hipotensor, diurético, antiinflamatório (Vendruscolo, 2005).

O uso de extratos de plantas medicinais tem como principais características o baixo custo, fácil produção, e maior rendimento, quando comparada a utilização de óleos essenciais, sendo necessária a realização de mais estudos que forneçam parâmetros confiáveis tal comprovação do potencial antimicrobiano do *Cymbopogon citratus*, através do extrato bruto do mesmo.

Vários estudos apontam o potencial antimicrobiano e antiparasitário do *C. citratus*, frente a microrganismos envolvidos em danos aos animais e plantas.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta da planta

A planta, *Cymbopogon citratus* foi coletada na horta do Centro Universitário Tabosa de Almeida – Asces-Unita, entre os meses de fevereiro e abril de 2016. O preparo e as análises laboratoriais foram realizados nos Laboratórios de Tecnologias Farmacêuticas e Análises Microbiológicas da Asces-Unita.

2.2 Preparo dos extratos

As folhas do *Cymbopogon citratus* foram lavadas em água corrente, secas, trituradas por turbólise e maceradas, a fim de se extrair os princípios ativos. Em seguida o material foi levado para estufa a 50°C durante 72 horas para total secura. Após o processo descrito acima foi utilizado como solvente o etanol em duas concentrações, a fim de se obter dois extratos. O primeiro extrato foi realizado com o etanol em concentração de 96%, e o segundo extrato 70%. O processo de extração se deu da seguinte forma: durante 5 dias cerca de 500g da planta seca ficou submersa em etanol, e logo após, a solução foi filtrada e levada novamente a estufa durante 72 horas a 50°C, obtendo-se assim o extrato bruto seco da planta.

2.3 Análises microbiológicas

Extratos

As concentrações (12,5%; 25%; 50%; e 100%) dos dois extratos foram utilizadas na realização das análises microbiológicas, realizadas em triplicata. As diluições foram feitas da seguinte forma: Para solução 1 foi utilizada 54mg do extrato 1, e solução de cloreto de sódio 0,9% para perfazer 10ml. Para a solução 2 foi utilizada 2,2g (3ml) do extrato 2, e solução de cloreto de sódio 0,9% para perfazer 10ml. O extrato 1 apresentou-se insolúvel, sendo acrescentado 10 gotas de TWIN 80. Foi utilizada uma solução de Amoxicilina como controle positivo, utilizando 54mg de Amoxicilina e solução de cloreto de sódio 0,9% para perfazer 10ml.

Linhagens microbianas

As cepas utilizadas para as avaliações microbiológicas tiveram sua fenotipagem previamente determinadas, sendo usadas cepas da *American Type Culture Collection* - ATCC: *Staphylococcus MSSA* ATCC® 3613; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853 e ATCC®19429; e *Salmonella choleraesuis* ATCC®10708. E cepas da Coleção de Cultura do Laboratório Escola Ascés-Unita: *Staphylococcus epidermidis*; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae* e *Candida albicans*.

Preparo dos inóculos

Os inóculos bacterianos e fúngico foram preparados utilizando 1 ml de solução salina e colônias bacterianas/fúngica, a fim de se obter uma turvação correspondente a 0,5 da escala de McFarland, $1,5 \times 10^8$ UFC/ml. O procedimento foi realizado de acordo com as normas do *Clinical laboratory Standards Institute* (CLSI, 2015;2016).

Testes microbiológicos

Determinação da Concentração Inibitória Mínima – CIM

A CIM refere-se a menor concentração de extrato capaz de inibir o crescimento microbiano. Esse teste foi realizado através da técnica de difusão de poços em ágar. As suspensões dos microrganismos foram inoculadas com auxílio de um swab, através do semeio por atapetamento, em placas de Petri contendo o Ágar Mueller-Hinton. Logo após foram feitos 4 poços com 6mm de diâmetro, e inseridos 50µL das soluções dos extratos nas concentrações 12,5%; 25%; 50%; e 100%, em cada poço, respectivamente. Em seguida as placas foram incubadas em estufa a 37°C entre 18-24 horas. Após a incubação, foi feito a mensuração dos halos em milímetros, com o auxílio de um paquímetro, a fim de determinar a CIM. Todos os testes foram realizados em triplicata, a fim de evitar erros pré-analíticos e/ou analíticos.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência – CIMA

A CIMA refere-se a menor concentração de extrato necessário para inibir a aderência dos microrganismos à parede do tubo de ensaio.

O teste se deu inicialmente através do preparo de Caldo Mueller-Hinton com 5% de sacarose, aliqüotado em tubos de ensaio contendo 4,5mL cada um. Após esse preparo, foi adicionado 0,5ml das soluções-extratos, nas concentrações 12,5%; 25%; 50%; e 100%, em 4 tubos, respectivamente. Em seguida, foi adicionado 50 µL da suspensão de microrganismo. Posteriormente o preparo de todos os inóculos, os tubos foram levados para estufa a 37°C por 24 horas, em microaerofilia, dispostos os tubos a 30° de inclinação.

Após o período de incubação foi realizada a leitura, por observação visual adicionando azul de metileno para facilitar a visualização da aderência dos microrganismos na parede do tubo.

Produção do xarope

Não houve a produção da formulação farmacêutica (xarope) proposto inicialmente, em consequência dos extratos avaliados não apresentarem atividade antimicrobiana.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos 1 (etanol 96%) e 2 (etanol 70%) apresentaram divergências de aspecto, cor, odor e rendimento, o que pode ser explicado pela utilização de diferentes concentrações de etanol. (Tabela 1)

Parâmetro	Extrato 1 (etanol 96%)	Extrato 2 (etanol 70%)
Aspecto	Viscoso	Líquido
Cor	Verde escuro	Amarelo-âmbar
Odor	Característico (limão)	Característico (fraco)
Rendimento	6g	13ml

Tabela 1. Caracterização dos extratos

Foram previamente determinadas as características fenotípicas das cepas bacterianas utilizadas nos testes microbiológicos. Entretanto não foram determinadas as características das cepas de *Candida albicans*, *Salmonella choleraesuis* e *Staphylococcus epidermidis*. (Tabela 2)

Microrganismo	Perfil de sensibilidade/resistência	
	Sensível	Resistente
<i>Staphylococcus</i> MSSA	5, 13 - 15, 18, 20, 21, 23, 26, 29	17, 24, 25, 27, 31
<i>Escherichia coli</i>	1, 4, 10, 16, 18, 19, 22, 24, 28, 30	3, 13, 14, 20, 25, 29, 31
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1, 2, 6 -11, 13, 16, 18, 19, 22, 28 - 30, 32	4, 12, 14, 20, 24, 25, 31
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC®27853	1, 8, 11, 14, 18 - 20, 22, 25, 28	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC®19429	8, 14, 19, 22, 25, 28	1, 6, 11, 18, 20

Antibióticos utilizados no TSA. 1 Amikacin; 2 Amoxicillin-clavulanate; 3 Ampicilin; 4 Ampicillin-sulbactam; 5 Azithromycin; 6 Aztreonam; 7 Cefazolin; 8 Cefepime; 9 Cefotaxime; 10 Cefoxitin; 11 Ceftazidime; 12 Cefuroxime; 13 Chloramphenicol; 14 Ciprofloxacin; 15 Clindamycin; 16 Ertapenem; 17 Erythromycin; 18 Gentamicin; 19 Imipenem; 20 Levofloxacin; 21 Linezolid; 22 Meropenem; 23 Minocycline; 24 Nitrofurantoin; 25 Norfloxacin; 26 Oxacillin; 27 Penicillin; 28 Piperacillim-tazobactam; 29 Tetracycline; 30 Tobramycin; 31 Trimethoprim; 32 Ceftriaxone.

TABELA 2. Teste de Sensibilidade Antimicrobiana - TSA (Antibiograma).

Realizado de acordo com os documentos M02-A12, M07-A10, e M100-S26, do ano de 2016 do
 CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute

Nenhuma das soluções dos extratos foram capazes de conter o crescimento microbiano, como está descrito na tabela 3.

Micrororganismo	Halo (mm)											
	Extrato 1				Extrato 2				Amoxicilina			
	12,5%	25%	50%	100%	12,5%	25%	50%	100%	12,5%	25%	50%	100%
<i>Staphylococcus MSSA</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	>20	>20	>20	>20
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	7	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC®27853	0	0	0	0	0	0	0	0	>20	>20	>20	>20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC®19429	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3
<i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC®10708	0	0	0	0	0	0	0	0	>20	>20	>20	>20
<i>Candida albicans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

TABELA 3. Determinação da Concentração Inibitória Mínima – CIM.

Alguns halos apresentaram-se > 20mm, não podendo ser mensurado exatamente, por cobrir toda, ou quase toda a extensão da placa de Petri.

A Determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência – CIMA está descrita na tabela 4.

Micrororganismo	Extrato 1				Extrato 2			
	12,5%	25%	50%	100%	12,5%	25%	50%	100%
<i>Staphylococcus MSSA</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC®27853	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC®19429	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC®10708	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

TABELA 4. Determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência – CIMA

Legenda: (-) Negativo, não apresentou atividade.

Durante os testes microbiológicos as soluções-extrato não contiveram o crescimento dos microrganismos, não exibindo características bactericidas, bacteriostáticas ou antifúngica, frente às cepas utilizadas. Obtendo-se como resultado que os extratos do *Cymbopogon citratus* avaliados não apresentaram atividade antimicrobiana, justifica-se a não produção do xarope proposto inicialmente.

Os resultados evidenciados no presente experimento corrobora com o estudo de Haida (2000), onde constatou-se que extratos etanólico, cetônico, clorofórmico, hexânico e aquoso de *C. citratus*, não possuíam potencial antibacteriano, frente a cepas de *Escherichia coli*, *S. aureus*, e *Klebsiella pneumoniae*, o que também foi resultado do estudo de Furtado (2015), realizado com o extrato aquoso do *C. citratus*, onde observou que frente às cepas *Escherichia coli* (ATC 25922), *S. aureus* (ATCC 25925), e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), o extrato não apresentou atividade antibacteriana.

Lucena (2015), observou em seu estudo com óleo essencial do *Cymbopogon citratus* um potencial antibacteriano e ação sinérgica com antibióticos aminoglicosídeos frente a cepas de *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa* e obteve um rendimento de 0,49%, colaborando com outros estudos, que apontam um rendimento de 0,28% a 0,50%, como o estudo de Nascimento (2000).

Conforme o estudo de Valeriano, o óleo essencial de *Cymbopogon citratus* apresentou maior atividade antimicrobiana frente a *E. coli* quando comparada às demais bactérias, e atividade moderada frente a *Enterobacter sakazakii*, *Salmonella enteritidis* e *Listeria monocytogenes*.

A capacidade dos óleos essenciais de inibir o crescimento bacteriano permite que os mesmos sejam utilizados como antimicrobianos naturais na indústria de alimentos. Assim é necessário verificar em qual concentração os mesmos devem ser aplicados, para isso devem ser realizados testes in vitro que definem as concentrações mínimas inibitórias (CMI) que apresenta efeito bacteriostático ou inibitório (Burt, 2004). Dessa maneira, foram encontradas concentrações de 1,56% (v/v) para o óleo essencial de *C. citratus*, exposta como medida do desempenho antibacteriano (Oliveira et al, 2010).

Nascimento, et al. (2003) relatam que o componente mais importante do óleo essencial do capim-santo é o *citral*, que segundo Martins (2004), no cultivo brasileiro o mesmo está em torno de 75 a 86% sendo sua composição formada por α -citral (geranial) e β -citral (neral) que apresentam uma reconhecida atividade antibacteriana frente a linhagens Gram-positivas e Gram-negativas. Tem ação calmante e espasmolítica comprovada, atribuída à presença do citral, enquanto a atividade analgésica é devida ao mirceno (Matos, 2000).

De acordo com, Bertini (2005), o óleo essencial do *C. citratus* em concentração de 10 e 20 μ L apresenta potencial bactericida frente a cepas de *S. aureus*, *P. aeruginosa* e

E. coli, quando testado pelo método de difusão de poços. E Pereira (2004), evidenciou em seu estudo atividade antibacteriana do óleo essencial de *C. citratus*, frente às cepas *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii* e *Enterobacter aerogenes*. Já para as cepas de *Klebsiella oxytoca* e *Pseudomonas aeruginosa*, a atividade não foi evidenciada. Alguns trabalhos demonstraram que a composição química do óleo essencial sofre variações de acordo com a diversidade genética, o habitat e os tratos culturais (Leal et al., 2001). As temperaturas elevadas influenciam na qualidade do óleo essencial do *Cymbopogon citratus*, por apresentarem maiores concentrações do citral no horário de 08:00 às 13:00 horas e rendimento de 0,28 a 0,50% da massa de folhas tanto secas como frescas (Singh et al., 1982).

Nascimento et al, (2003) comprovou que os horários entre 9:00 e 11:00 horas possibilitam à máxima produção de óleo essencial (5,59 e 5,31 mL.kg⁻¹ de matéria seca), citral (61,23%) e mirceno (24,14%), determinando-o como provavelmente do tipo West Indian (conforme as diferenças de composição química que se refletem na solubilidade com álcool a 70% do teor de mirceno).

4 | CONCLUSÃO

Apesar dos resultados obtidos com o experimento não apresentarem atividade antimicrobiana, o que colabora com outros estudos com extratos de *C. citratus*, ainda assim deve ser levada em consideração a produção de novos estudos. Haja vista que a literatura aponta a atividade antimicrobiana de diversos óleos essenciais obtidos através de plantas medicinais, incluindo o *Cymbopogon citratus*. Ressalta-se que a obtenção de óleos essenciais é um processo de maior custo e difícil execução comparado a produção de extratos. Vale salientar também que as formulações farmacêuticas do tipo xarope, são utilizadas com finalidade terapêutica em diversos casos, e sua produção não requer altos investimentos, além de ser facilmente administrado.

5 | AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Centro Universitário Tabosa de Almeida – Ascens-Unita, e a Coordenação de Pesquisa e Pós-graduação, através do Programa de Iniciação Científica – INICIA, pelo apoio durante o desenvolvimento do experimento.

REFERÊNCIAS

BERTINI, L. M *et al*: **PERFIL DE SENSIBILIDADE DE BACTÉRIAS FRENTE A ÓLEOS ESSENCIAIS DE ALGUMAS PLANTAS DO NORDESTE DO BRASIL**. infarma v.17, nº 3/4, 2005.

BRUNO F. F. LUCENA, *et al*. **Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora de aminoglicosídeos do óleo essencial de cymbopogon citratus (dc.)** Stapf. Acta biol.

Colomb., 20(1):39-45 janeiro - abril de 2015.

BURT, S. **Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review.** International Journal of Food Microbiology, v.94, n.3, p.223-53, 2004.

CÁPIRO, N.; SANCHEZ-LAMAR, A.; FONSECA, G.; BALUJA, L. & BORGES, E. 2001. **Capacidade protectora de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. Ante el daño genético inducido por estrés oxidativo.** Revista Cubana de Investigación Biomedica 20(1): 33-38.

CARBAJAL, D.; CASACO, A.; ARRUZAZABALA, L.; GONZALEZ, R. & TOLON, Z. 1989. **Pharmacological study of *Cymbopogon citratus* leaves.** Journal of Ethnopharmacology 25: 103-107.

DUARTE, M. C. T. **Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil.** Campinas-SP, 2006.

FURTADO, et al. **Atividade Antimicrobiana do Extrato Aquoso de *Eucalyptus globulus*, *Justicia pectoralis* e *Cymbopogon citratus* Frente a Bactérias de Interesse.** UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde 2015;17(4):233-7

GOMES, E.C. & NEGRELLE, R.R.B. ***Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf: Aspectos botânicos e ecológicos.** Visão Acadêmica 4(2): 137-144. 2003.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO A.; MENEZES H. **Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas.** Arq. Inst. Biol. v.72, n.3, p.353-358, 2005.

HAIDA, K. S., PARZIANELLO, L., WERNER, S., GARCIA, D. R., INÁCIO, C. V. **Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais.** Arq. Ciênc. Saúde Unipar, Umuarama, v. 11, n. 3, p. 185-192, set./dez. 2000.

LEAL, T.C. A. B.; FREITAS, S. P.; SILVA, J.F. da.; CARVALHO, A.J.C. de. **Avaliação do efeito da variação estacional e horário de colheita sobre o teor foliar de óleo essencial de capim- cidreira (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf).** Revista Ceres, v.48, n.278, p.445-453, 2001.

MARTINAZZO, A.P.; CORREA, P.C.; MELO, E.C.; BARBOSA, F.F. **Difusividade efetiva em folhas de *Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf submetidas à secagem com diferentes comprimentos de corte e temperaturas do ar.** Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.9, n.1, p.68-72, 2007.

MARTINS MBG, MARTINS AR, TELASCRÊA M, CAVALHEIRO AJ. **Caracterização anatômica da folha de *Cymbopogon citratus* (CD.) Stapf (Poaceae) e perfil químico do óleo essencial.** Rev Bras Plantas Med. 2004;6(3):20-29.

MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil.** Fortaleza: UFC, 2000.

NASCIMENTO GGF, LOCATELLI J, FREITAS PC, SILVA GL. **Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria.** Braz J Microbiol. 2000;31(4):247-256.

NASCIMENTO, IB do *et al.* **Efeito do horário de corte no óleo essencial de capim-santo.** Cienc Agron, v. 34, p. 169-172, 2003.

OLIVEIRA, M. M. M. *et al.* **Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de Cymbopogon.** 2010.

PEREIRA, R.S.; SUMITA, T.C.; FURLAN, M.R.; JORGE, A.O.C. & UENO, M. 2004.
Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. Revista de Saúde Pública 38(2): 326-328

VALERIANO, C. **Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar.** Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.14, n.1, p.57-67, 2012.

VENDRUSCOLO, G. S., et al. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.** 2005.

EFEITOS TERAPÊUTICOS DO FRUTO DA ACEROLEIRA (*MALPIGHIA GLABRA L.*)

Brunna Larissa de Souza Melo Ferreira

Aluna de Farmácia do Centro Universitário Tabosa de Almeida, Caruaru - PE

Maria Eduarda Silva Amorim

Aluna de Farmácia do Centro Universitário Tabosa de Almeida, Caruaru - PE

Joice Luiza Pereira da Silva

Aluna de Farmácia do Centro Universitário Tabosa de Almeida, Caruaru - PE

Maria Fernanda Ferreira de Lima

Aluna de Farmácia do Centro Universitário Tabosa de Almeida, Caruaru - PE

Yago Eudvan Neves

Aluno de Farmácia do Centro Universitário Tabosa de Almeida, Caruaru - PE

Vanessa Camylla Bernardo de Oliveira

Aluna de Farmácia do Centro Universitário Tabosa de Almeida, Caruaru - PE

Risonildo Pereira Cordeiro

Discente de Farmácia do Centro Universitário Tabosa de Almeida, Caruaru - PE

Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo

Discente de Farmácia do Centro Universitário Tabosa de Almeida, Caruaru - PE

RESUMO: As plantas medicinais são utilizadas de diversas formas para tratamento e prevenção de diversas doenças. Entre essas plantas encontra-se a *Malpighia glabra* L., popularmente conhecida como aceroleira, espécie nativa da

América tropical, que apresenta alto teor de carotenóides, antocianinas, vitamina A, B6, C, magnésio e ferro, o que permite conferir atividade nutritiva, adstringente, estimulante, remineralizante e principalmente antioxidante. É indicada no tratamento e na prevenção de doenças infecciosas como gripe, resfriados, fadiga e também para distúrbios hepáticos. Tendo em vista suas propriedades já comprovados por estudos anteriores, a pesquisa, por meio de revisão de literatura, utilizou-se artigos no banco de dados SciELO e Lilacs, bem como os artigos citados em monografias produzidas pelo Centro de Informações sobre Plantas Mediciniais (CIPLAM), localizado no Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita) de fontes nacionais e internacionais e visa realizar um estudo retrospectivo com base nos constituintes químicos presentes na planta e suas possíveis ações terapêuticas. Ao final, foi possível concluir que por seus diversos componentes ativos o fruto da aceroleira têm destacada ação antioxidante e anti-inflamatória, tais ações ocorrem principalmente pela presença em abundância de vitamina C e antocianinas.

PALAVRAS-CHAVE: Aceroleira, *Malpighia glabra*, fitoterapia.

ABSTRACT: Medicinal plants are used in several ways in the treatment and prevention of many diseases. Amongst these plants there is

Malpighia glabra L., popularly known as acerola, a native species of tropical America that presents a high content of carotenoids, anthocyanins, vitamins A, B6, C, magnesium and iron, components that allow nutrient, astringent, stimulating, remineralizing and mainly antioxidant activities. It is indicated in the treatment and prevention of infectious diseases such as flu, common cold, fatigue and hepatic disorders. Considering its properties that were proven by previous studies, this research, by means of literature review, used articles from national and international sources. Those were selected from Scielo and Lilacs databases, as well as from referenced monographies produced by the Centro de Informações sobre Plantas Mediciniais (CIPLAM), located at the Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita). The research aimed to carry out a retrospective study based on the chemical constituents present in the plant and their possible therapeutic effects. By the end, it was possible to conclude that due to its several active components, the acerola fruit has outstanding antioxidant and anti-inflammatory action, and such actions occur mainly due to the abundant presence of vitamin C and anthocyanins.

KEYWORDS: Aceroleira, *Malpighia glabra*, Fitoterapy.

1 | INTRODUÇÃO

As plantas medicinais fazem parte da evolução humana, sendo utilizadas nos primórdios da civilização para tratamento e cura de enfermidades (SILVA et al., 2012), possuem em pelo menos uma parte da sua morfologia, constituintes ativos que podem ser usados para fins terapêuticos. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) apud Souza et al. (2013), 80% da humanidade não têm acesso ao atendimento primário de saúde e para essa população o uso de plantas medicinais e fitoterapia como terapia alternativa são as principais formas de tratamento.

A *Malpighia glabra* L. popularmente conhecida como acerola ou cereja-das-antilhas apresenta-se atrativa pelo seu sabor agradável e destaca-se por seu reconhecido valor nutricional, principalmente como fonte de vitaminas, ferro e cálcio. A acerola é muito utilizada popularmente pela sua ação adstringente, vitamínica, antioxidante, antianêmica, nutritiva e antifúngica, como também alguns estudos relacionam seu uso a baixa incidência de doenças cardíacas, câncer e hipertensão (KAHL et al., 2015; QUOC et al., 2015). Devido ao seu alto teor de vitamina C, é considerado um produto de excelente qualidade, destacando-se no campo dos alimentos funcionais. Outros produtos de acerola que podem ser encontrados no mercado interno são: acerola em pó, acerola com vitamina E, cápsulas medicinais de vitamina C pura, geleias e doces (PEREIRA et al. 2013).

Considerando sua extensa variedade de compostos ativos e frequente uso na medicina tradicional como forma complementar de tratamento de diversas doenças, o trabalho apresenta como objetivo elucidar os principais constituintes da aceroleira correlacionando a suas atividades terapêuticas já confirmadas na literatura e corroborando as informações com o uso popular da planta.

2 | METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão bibliográfica integrativa, no âmbito da Prática Baseada em Evidências (PBE), com a finalidade de analisar os efeitos terapêuticos da *Malpighia glabra* L. correlacionando com seus principais constituintes. Foram analisados trabalhos científicos nas bases de dados Scientific Electronic Library Online (SciELO), Literatura Latino-Americana Saúde (LILACS), Science Direct e Portal CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), bem como artigos citados nas monografias desenvolvidas pelo Centro de Informações Sobre Plantas Medicinais (CIPLAM), localizado no Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita).

Apresentando como critérios de inclusão artigos originais, revisões de literatura, relatos de caso, dissertações e teses, nas línguas inglesa e portuguesa durante o período de 2003 a 2015. Publicações que se referem a espécie citada ou relacionado às suas atividades e compostos bioativos. Como critério de exclusão, quaisquer periódicos que não apresentassem informações necessárias ou relevantes para o estudo.

3 | REVISÃO DE LITERATURA

Devido a sua ampla diversidade biológica, a procura no Brasil por meios alternativos para tratamento de doenças através da medicina popular é bastante indiscriminada. Atualmente, há uma grande preocupação dos consumidores sobre a importância de escolher alimentos funcionais como um meio de prevenção de doenças e na melhoria da qualidade de vida. As frutas são incluídas neste tipo de alimentos, já que elas são amplamente aceitas pelos consumidores e são fontes importantes de compostos antioxidantes, vitaminas e outros nutrientes (SANTOS et al., 2012).

A acerola ou cereja-das-antilhas, pertencente à família Malpighiaceae, é uma espécie nativa da América Tropical, sua disseminação pelo mundo é pouco conhecida, relatos dizem que está se espalhou pelas ilhas do Caribe através dos pássaros e dos imigrantes. Foi reconhecida em território brasileiro com o nome de acerola propriamente dito em 1958 por uma professora portuguesa naturalizada no Brasil chamada Maria Celene Ferreira Cardoso de Almeida, que em uma de suas viagens a Porto Rico trouxe sementes de acerola que foram semeadas em sementeira no campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Assim, a UFRPE deu início a divulgação da acerola em Pernambuco e estados vizinhos como importante fonte de vitamina C, cálcio, fósforo e ferro (SHINOHARA et al., 2015).

De acordo com Segtowick, Bruneli e Venturini Filho (2013), no mercado brasileiro, a *Malpighia glabra* L. é comercializada *in natura*, congelada, na forma de polpa congelada, néctar, suco tropical, suco concentrado, licor, etc. Consumida também industrializada, sob a forma de sucos, sorvetes, geleias, xaropes, licores, doces em

caldas, a acerola pode ser processada para a produção de bebidas alcoólicas e não alcoólicas (SEGTOEWICK, 2013). Desta forma, atrai o interesse comercial de pequenos e grandes fruticultores destacando-se como importante fonte econômica em várias regiões do Brasil.

A acerola é economicamente cultivada em Porto Rico, Cuba e Estados Unidos, além do Brasil, que passou a ser o maior produtor, consumidor e exportador do mundo, com destaque para os estados da Bahia e Pernambuco que são os maiores produtores desta fruta. A aceroleira dependendo do país onde é cultivada produz frutos de três a quatro vezes por ano e apresenta-o com sabor agridoce, succulento e medindo de 1 a 3 cm de diâmetro. Contudo, seu teor de vitamina C e outras características como coloração, peso e pH podem ser afetados pela temperatura, umidade, adubação, métodos de controle de pragas, entre outros (SHINOHARA et al., 2015).

Altamente perecível devido ao seu alto teor de água e pele fina, possui uma vida útil de poucos dias após a colheita. Sofre lesão por baixas temperaturas, contudo, altas temperaturas também é prejudicial já que gera uma perda de umidade brusca (QUOC et al., 2015). A *Malpighia glabra* L. se apresenta como fruto climatérico, podendo passar por diversas variações durante seus estágios de maturação, inclusive nos teores de seus compostos bioativos. Destaca-se decréscimo na acidez, degradação da clorofila, aparecimento de carotenóides e perda de ácido ascórbico.

Segundo Shinohara et al. (2015) o conteúdo da vitamina C decresce com a maturação do fruto, ou seja, os frutos verdes apresentaram valores superiores em relação aos frutos maduros; já sua doçura, aumenta com o amadurecimento da planta, a tornando apta e desejável para o comércio.

A composição da *Malpighia glabra* L. inclui substâncias como a malvidina-3,5-diglicosilada e cianidina-3-monoglicosilada, pelargonidina e as antocianinas. Outras pesquisas destacam os compostos quercetina, caempferol, flavonóis, ácidos fenólicos, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido cumárico, ácido ferúlico e os carotenóides α -caroteno, β -caroteno e β -criptoxantina, além de caracterizar por ser fonte natural de vitamina C (ácido ascórbico) (FREITAS, et al., 2013; SOUZA; CAMPOS; PACKER, 2013). Conforme citado por Caetano, Daiuto e Vieites apud Aguiar (2012), o teor de β -caroteno da acerola, quando associado ao alto conteúdo de vitamina C, a torna um fruto de grande importância nutricional.

3.1 Ácido Ascórbico e Seus Benefícios

A ampla quantidade de compostos fenólicos proporciona a acerola uma alta atividade antioxidante, principal efeito terapêutico da planta; além disso, esses compostos também proporcionam as características visuais e de sabor da planta. Os antioxidantes são conhecidos pela ação em diferentes níveis do processo de oxidação envolvendo moléculas de lipídeos. Eles podem agir diminuindo a concentração de oxigênio; evitando a fase de iniciação da oxidação e quelando íons metálicos (SUCUPIRA et. al., 2012).

Vidal e Freitas (2015) descreveram em um de seus estudos as características organolépticas da vitamina C, que é uma substância cristalina, com sabor ácido e insolúvel na maior parte dos solventes orgânicos. A vitamina C é considerada um dos mais potentes e menos tóxicos antioxidantes naturais atuando como sequestrador muito eficaz de radicais livres, tais como: o ânion superóxido, o radical hidroxila, o peróxido de hidrogênio e o oxigênio singlete (SUCUPIRA et al., 2012).

Os radicais livres são espécies reativas de vida curta que interagem com substâncias facilmente oxidáveis, ocorrem ao longo da vida como consequência do acúmulo de substâncias no organismo que provocam oxidação de proteínas, DNA e lipídios; também podem ser gerados pelo próprio organismo para combater agentes externos como fungos e bactérias (SOUZA, 2015; ELESBAO et al., 2014).

Logo, antioxidantes são substâncias capazes de agir contra os danos normais causados ao excesso de radicais livres, prevenindo o ataque destas as membranas celulares e conseqüentemente o envelhecimento (ROCHEL, 2015; ELESBAO et al., 2014). A indústria cosmética tem investido em produtos tópicos contendo vitamina C por conta de sua atividade antioxidante e anti-inflamatória. Tais efeitos ajudam em problemas relacionados a dermatose inflamatória, doenças auto imune e doenças fotossensibilizantes (VIDAL; FREITAS, 2015).

O ácido ascórbico também protege muitas moléculas essenciais do corpo como proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos (DNA e RNA) dos danos devidos aos radicais livres. A proteção ao DNA do dano oxidativo é um meio pelo qual está vitamina pode reduzir o risco de câncer (ELESBAO et al., 2014). Seu uso associado a medicamentos oncológicos diminui significativamente o número de células e metástases anormais. Esse potencial deve se porque o ácido ascórbico mantém as enzimas em seus estados reduzidos e poupa a glutathione e a peroxidase, dois importantes antioxidante intracelular e cofator enzimático (VIDAL; FREITAS, 2015)

De acordo com Sahionara et al., (2015), o suco da acerola possui de 50 a 100 vezes mais teor de ácido ascórbico quando comparado ao suco de limão ou de laranja, respectivamente. Devido à grande quantidade dessa vitamina, a acerola é capaz de atuar também no fortalecimento imunológico, melhorando a absorção do ferro no organismo.

3.2 Antocianinas e seus Benefícios

Antocianinas são compostos presente em plantas que conferem sua pigmentação vermelha, laranja ou azul. Sua presença é universalmente associada a frutas atrativas, saborosas e com coloração forte; também estão associadas a ingredientes alimentícios e plantas com ação benéfica a saúde humana. Neves (2009) afirma que quanto maior o teor de antocianinas, melhor a aceitação do produto por parte dos consumidores. Ainda segundo Neves (2009), a acerola, por possuir altos teores de antocianina e ácido ascórbico, um composto atua degradando o outro, o que pode alterar a coloração da mesma.

Numerosos estudos têm mostrado os efeitos terapêuticos positivos das antocianinas, tais como antioxidante, anti-inflamatórios, protetor de DNA e protetor de doenças cardiovasculares (VIZZOTTO, 2012). Os estudos se intensificaram a partir da descoberta do potencial terapêutico anticancerígeno, outra ação benéfica que atua estimulando a apoptose de células malignas originadas em várias regiões do corpo, como estômago, cólon, mama, pulmão e sistema nervoso central (ZHANG; VAREED; NAIR apud NEVES, 2009). Também destaca-se a atividade anti-inflamatória decorrente da inibição da enzima ciclooxigenases 1 e 2 que são responsáveis pelos sinais inflamatórios como dor, rubor, edema e calor.

Estudos realizados por Nair et al. (2012), em sua patente, comprovaram que a acerola possui o componente cianidina-3-glicosídeo. Composto esse que lhe concede além da pigmentação alaranjada, efeito terapêutico contra as enzimas ciclooxigenases. Já Seeram et al. (2001) observou, através de testes em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), que a cianidina-3-glicosídeo possui uma boa atividade contra as enzimas COX-1 e COX-2, quando comparada a cianidina 3-rutinosídeo, no entanto, essa atividade pode ser aumentada quando misturados os dois compostos.

As antocianinas juntamente com o ácido ascórbico demonstraram potente atividade antioxidante assim como efeito na prevenção de doenças crônicas cardiovasculares, neurológicas e doenças cancerígenas (NEVES, 2009). Brito et al. (2007) identificaram cianidina-3-ramnosídeo e pelargonidina-3-ramnosídeo como principais antocianinas em acerola.

Segundo Hanamura, Hagiwara e Kawagishi (2005), a antocianina cianidina-3-ramnosídeo identificada em acerola mostrou uma forte capacidade de neutralização do radical superóxido (O_2^-), semelhante à apresentada pela quercetina e os autores explicaram que a atividade antioxidante está fortemente correlacionada com o número de hidroxilas do anel B da estrutura dos polifenóis.

As respectivas agliconas das antocianinas são compostos bioativos que possuem atividade antioxidante, pois sua estrutura química possibilita a doação de elétrons ou de átomos de hidrogênio dos grupos hidroxilas para os radicais livres (KÄHKÖNEN, 2003; PRIOR, 2003).

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos sobre plantas medicinais têm se tornado bem relevante, uma vez que são terapias alternativas de custo muito acessível e podem ser usadas tanto para tratamento de doenças como para a própria cura. O estudo sobre a acerola, é de suma importância, devido a grande diversidade de constituintes ativos, para que possa ser comprovado outras ações além das já descobertas.

Um dos principais componentes presentes na acerola é a vitamina C, a qual, atua no sistema imunológico, ajudando na prevenção de diversas doenças, inclusive as infecciosas e sua atividade antioxidante, impedindo a oxidação de substâncias,

retardando o seu envelhecimento. Outro constituinte imensamente importante são as antocianinas, uma vez que possui diversos benefícios, e entre eles podemos destacar sua atividade anti-inflamatória, anticancerígena e também auxiliando a atividade antioxidante.

REFERÊNCIAS

- BRITO, E.S.; ARAÚJO, M.C.P.; ALVES, R.E.; CARKEET, C.; CLEVIDENCE, B.A.; NOVOTNY, J.A. **Anthocyanins present in selected tropical fruits: Acerola, Jambolão, Jussara e Guajiru.** Journal of Agricultural and Food Chemistry. v. 55, p. 9389-9394, 2007.
- CAETANO, P. K.; DAIUTO, É. R.; VIEITES, R. L.; **Característica físico-química e sensorial de geleia elaborada com polpa e suco de acerola.** Brazilian Journal of Food Technology. v. 15, n. 3, p. 191-197, 2012.
- ELESBAO, R. et al. **Inka Camu Camu.** Rev 3QP. 23 de junho de 2014.
- HANAMURA, T.; HAGIWARA, T.; KAWAGISHI, H. **Structural and functional characterization of polyphenols isolated from acerola (*Malpighia emarginata* D.C) fruit.** Bioscience Biotechnology and Biochemistry. v. 69, p. 280-286, 2005.
- KÄHKÖNEN, M.P.; HEINONEM, M. **Antioxidant activity of anthocyanins present in fruits.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 51, p. 628-633, 2003.
- KAHL, V. F. S. et al. **A influência da origem geográfica de amostras de acerola (*Malpighia glabra* L.) em relação ao seu potencial genotóxico e antigenotóxico.** Revista de Iniciação Científica da ULBRA, v. 7, n. 7, 2015.
- NAIR, Muraleedharan G. et al. **Dietary food supplement containing natural cyclooxygenase inhibitors and methods for inhibiting pain and inflammation.** U.S. Patent n. 8,337,914, 25 dez. 2012.
- NEVES, Michelline Viviane Marques das. **Polpa de acerola (*Malpighia emarginata* DC) adicionada de extrato comercial de própolis: avaliação físico-química e sensorial.** 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Ciências Domésticas, Universidade Rural de Pernambuco, Pernambuco. 134 f.
- PEREIRA, C. T. M. et al. **Obtenção, caracterização físico-química e avaliação da capacidade antioxidante in vitro da farinha de resíduos de acerola (*Malpighia glabra* L.).** Acta Tecnológica, v.8, n.2, p.50-56, 2013.
- PRIOR, R.L. **Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage.** American Journal of Clinical Nutrition, v. 78, p. 570-578, 2003.
- QUOC, L. P. T. et al. **Effect of xanthan gum solution on the preservation of acerola (*Malpighia glabra* L.).** Cercetari Agronomice in Moldova, v. 48, n. 3, p. 89-97, 2015.
- SANTOS, S. M. L. et al. **Evaluation of physical and physicochemical characteristics of *Malpighia emarginata* D.C. from the state of Ceará.** International Journal of Biochemistry. Research and Review, West Bengal, v.2, n.4, p.152-163, 2012.

SEGTOWICK, E. C. S.; BRUNELLI, L. T.; VENTURINI FILHO, W. G. **Avaliação físico-química e sensorial de fermentado de acerola.** Brazilian Journal Food Technology. Campinas, v. 16, n. 2, p. 147-154, 2013.

SHINOHARA, N. K. S. et al. **Maria Celene de Almolda: a mãe da Acerola (*Malpighia glabra* L.) no Brasil.** Revista Eletrônica “Diálogos Acadêmicos”. v. 09, n. 2, p. 49-63, 2015.

SILVA, S. M. F. Q. et al. **Atividade in vitro de extratos brutos de duas espécies vegetais do cerrado sobre leveduras do gênero *Candida*.** Ciência & Saúde Coletiva, 17(6):1649-1656, 2012.

SOUZA, C. M. P. et al. **Utilização de plantas medicinais com atividade antimicrobiana por usuários do Serviço Público de Saúde em Campina Grande – Paraíba.** Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.15, n.2, p.188-193, 2013.

SOUZA, F. P.; CAMPOS, G. R.; PACKER, J. F. **Determinação da atividade fotoprotetora e antioxidante em emulsões contendo extrato de *Malpighia glabra* L. – Acerola.** Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. v. 34, n. 1, p. 69-77, 2013.

SOUZA, M. P. **Estudo de compostos naturais de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) para cosméticos.** Ponta Grossa - PR, 2015.

SUCUPIRA, N. R. et al. **Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos.** UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde. v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012.

VIDAL, P. C. L.; FREITAS, G. **Estudo da antioxidação celular através do uso da vitamina C.** Revista Uningá Review, v. 21, n. 1, 2015.

VIZZOTO, M.; **Propriedades funcionais das pequenas frutas.** Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.33, n.268, p.84-88, maio/jun 2012.

ESTUDO DO EFEITO CITOTÓXICO DA CURCUMINA EM PRESENÇA DE ANTIOXIDANTES SOBRE LINHAGEM DE CÉLULAS TUMORAIS HRT-18

Daniel Brustolin Ludwig

Universidade Estadual do Centro-Oeste
(UNICENTRO)

Faculdade Guairacá (FAG)

Guarapuava – Paraná

Thaysa Ksiaskiewicz Karam

Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Maringá – Paraná

Katia Sabrina Paludo

Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG)

Ponta Grossa – Paraná

Rubiana Mara Mainardes

Universidade Estadual do Centro-Oeste
(UNICENTRO)

Guarapuava – Paraná

Najeh Maissar Khalil

Universidade Estadual do Centro-Oeste
(UNICENTRO)

Guarapuava – Paraná

RESUMO: A curcumina, um polifenol extraído da planta *Curcuma longa*, é um composto de grande relevância no tratamento e prevenção de diversas patologias devido a suas propriedades biológicas, como antioxidante, antitumoral e anti-inflamatória. Um problema relacionado a esta molécula, é o fato desta sofrer rápida degradação em pH neutro à básico, a qual pode ser minimizada com a adição de substâncias

com propriedades antioxidantes, como o ácido ascórbico. Com isto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito citotóxico da curcumina, na ausência ou na presença do antioxidante ácido ascórbico. Os ensaios sobre células de linhagem tumoral HRT-18, avaliados pelo método do MTT e pela morfologia celular, demonstraram aumento do efeito da curcumina com a associação do ácido ascórbico. Conclui-se que a curcumina, na presença de substâncias antioxidantes como o ácido ascórbico, tem sua estabilidade aumentada em meio fisiológico demonstrando um efeito complementar destas substâncias, garantindo desta forma um aumento na atividade citotóxica da curcumina.

PALAVRAS-CHAVE: Curcumina, antioxidante, atividade citotóxica.

ABSTRACT: The curcumin, a polyphenol extracted from the plant *Curcuma longa* is a compound of great relevance in the treatment and prevention of various diseases due to their biological properties such as antioxidant, anti-inflammatory and antitumoral. A problem related with this molecule is a fast degradation in neutral pH to basics, which can be minimized with the addition of substances with antioxidant properties, such as ascorbic acid. With this, the aim of this work was to evaluate the cytotoxic

effect of curcumin in the absence or in the presence of antioxidant ascorbic acid. Tests on tumor cell line, HRT-18, evaluated by MTT method and the cell morphology, demonstrated an increased effect of curcumin with the combination of ascorbic acid. It was concluded that curcumin in the presence of antioxidants as ascorbic acid have increased stability in physiological medium demonstrating a complementary effect of these substances, thus ensuring an increase in cytotoxic activity of curcumin.

KEYWORDS: Curcumin, antioxidant, cytotoxic activity.

1 | INTRODUÇÃO

1.1 Estresse Oxidativo

O meio ambiente possui uma relação direta com a saúde, pois por meio dele o organismo humano entra em contato com diversas substâncias químicas e poluentes, o que afeta diretamente os estados de saúde e doença. E essa exposição constante a inúmeros fatores que estão presentes no meio ambiente podem levar ao surgimento de diversas patologias, entre elas o câncer, problemas crônicos de pulmão, diabetes e também a problemas neurodegenerativos (FRANCO et al., 2009; HOPPS et al., 2010), apresentando relação direta com os processos inflamatórios crônicos (REUTER et al., 2010). Com a importância dessa relação, entre fatores existentes no meio ambiente e problemas de saúde, esse assunto tornou-se tópico de saúde pública, despertando assim maior interesse na comunidade científica (FRANCO et al., 2009).

A condição biológica onde ocorre o desequilíbrio no organismo entre a produção de espécies reativas do oxigênio (ERO) e a capacidade antioxidante do mesmo para combater os intermediários reativos e assim provocar a detoxificação do organismo chama-se estresse oxidativo (ROSENFELDT et al., 2013). Lipídeos, carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos podem ser afetados por este desequilíbrio (BARGAGLI et al., 2009), podendo causar dano celular leve, e em maior intensidade, apoptose e necrose (ROSENFELDT et al., 2013).

1.2 Câncer

O câncer é definido como sendo uma doença causada pela divisão desordenada de células anormais, fato esse que ocorre por meio de um processo de mutação do DNA de células somáticas, onde muitos mecanismos tentam evitar esta divisão celular incontrolada, porém nem sempre são capazes disso (SA; DAS, 2008). Os fatores causadores do câncer são diversos, variando entre internos e externos ao organismo, sendo que essas geralmente são inter-relacionadas. Como causas internas estão principalmente os fatores genéticos e também os fatores relacionados a capacidade que o organismo possui em defender-se de agressões externas, já as causas externas estão relacionadas ao meio ambiente e aos hábitos e costumes, tanto social como

cultural. Estima-se que 5-10% dos casos de cânceres humanos são por fatores genéticos, enquanto os demais casos são por estilo de vida, como o fumo, exposição à radiação solar direta, radiação ionizante, hábitos alimentares, entre outros. Pode ocorrer a somatória desses fatores em um mesmo indivíduo, sendo que essa interação de fatores pode aumentar a probabilidade de transformações de células normais em células malignas (ANAND et al., 2008; INCA, 2016).

1.3 Curcumina

A curcumina [1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona], é um polifenol amarelo extraído do rizoma da *Curcuma longa*, uma planta tropical do Sudeste da Ásia, pertencente a família Zingiberaceae (PRIYADARSINI, 2009).

As atividades biológicas da curcumina são bem descritas na literatura, sendo encontrados estudos mostrando sua atividade frente ao tratamento de problemas respiratórios como asma e alergia, sendo também relatado boas atividades contra problemas de fígado, anorexia, reumatismo, diabetes e sinusite (SHAIKH et al., 2009). Além disso, há estudos que demonstram que a curcumina apresenta atividade contra várias doenças crônicas que apresentam inflamação, como a doença de Alzheimer, doença de Parkinson, esclerose múltipla, epilepsia, problemas cerebrais, psoríase, colite e AIDS (AGGARWAL; HARIKUMAR, 2009).

Outras atividades já relatadas da curcumina incluem a capacidade de prevenir e tratar diferentes tipos de câncer e outras doenças crônicas (GOEL; KUNNUMAKKARA; AGGARWAL, 2008; KÖSTEL; BORA-TATAR; ERDEM-YURTER, 2012). Este polifenol, além de alvos isolados, como por exemplo, COX-2, TNF, HER-2, possui ação sobre diversos alvos múltiplos, entre eles: citocinas inflamatórias, enzimas, fatores de crescimento, receptores, moléculas de adesão, proteínas anti-apoptóticas, proteínas quinases e fatores transcripcionais (KUNNUMAKKARA; ANAND; AGGARWAL, 2008).

1.4 Ácido Ascórbico

O ácido ascórbico possui uma atividade essencial no organismo humano, pois ele é considerado um dos antioxidantes mais importantes, o qual desempenha papel fundamental na prevenção de doenças (LI; FRANKE, 2009). Os derivados do ácido ascórbico possuem um perfil antioxidante muito semelhante ao perfil que o ácido ascórbico possui, dessa maneira estes derivados também são amplamente utilizados, porém aqueles que possuem uma cadeia alquila são os preferidos, devido a interação dessas cadeias com a parte hidrofóbica da membrana. Em relação a utilização, tanto do ácido como de seus derivados, os mesmos são utilizados em forma de drogas antioxidantes, ou mesmo em estudos que buscam tratamentos de linhagens tumorais (MORIBE et al., 2011).

Muitos estudos vêm sendo conduzidos no que diz respeito as atividades anticarcinogênicas e antioxidantes do ácido ascórbico, tanto de maneira isolada,

comparativa ou como de associação com outras substâncias antioxidantes. Já foram realizados estudos que avaliaram os efeitos da associação do ácido ascórbico com a curcumina sobre o dano nuclear ao DNA induzido pela quercetina, a peroxidação lipídica e a degradação proteica, sendo que os resultados obtidos mostraram que tanto o ácido ascórbico quanto a curcumina apresentam atividade antioxidante, mas também apresentam atividade pró-oxidante, e que essa diferença de atividade ocorre dependendo da presença e concentração de metais como ferro e cobre (SAHU; WASHINGTON, 1992)

Dessa maneira, com os diversos relatos na literatura sobre as atividades antioxidantes do ácido ascórbico e da curcumina, tanto separadamente como em conjunto, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da curcumina na ausência ou na presença do ácido ascórbico em linhagens de células tumorais HRT-18, para a determinação de um possível efeito sinérgico entre a curcumina e o ácido ascórbico.

2 | METODOLOGIA

Células de tumor colorretal humano (HRT-18) obtidas da American Type Culture Collectio – ATCC (Rockville, MD, EUA), foram cultivadas em meio RPMI-1640 contendo 5-10% de soro fetal bovino e mantidas a 37 °C a 5% de CO₂. O ensaio de citotoxicidade foi realizado pelo método colorimétrico utilizando MTT-tetrazólio; [3-(4,5-dimetiazol-2il-2,5-brometo de difeniltetrazólio)] através de metodologia descrita por Stockert et al. (2012). As células suspensas foram distribuídas em placas de 96 poços na quantidade de 2,5x10⁴ células/mL e incubadas por 24h a 37 °C com 5% CO₂. Passado este tempo as células foram tratadas com curcumina (30 µM a 10 µM) e ácido ascórbico (12,5 µg.mL⁻¹ a 0,39 µg.mL⁻¹), livres e em associação, por 24 e 48 horas nas mesmas condições anteriores. Após este período os poços foram lavados 3x com tampão PBS e em seguida adicionados 70 µL de MTT. Depois de 2 horas de incubação, o MTT foi retirado e adicionado 50 µL de etanol e 150 µL de uma solução contendo tampão PBS e isopropanol (1:1) para a solubilização dos cristais de formazan. A leitura do teste foi feita em 570 nm e 630 nm, sendo a absorbância proporcional ao número de células vivas. Os experimentos foram realizados em triplicatas e os resultados analisados através de média e desvio padrão.

3 | RESULTADOS

As análises morfológicas das células após o tratamento de 24 h mostraram que os controles, ou seja, as células que não receberam nenhum tratamento ou foram tratadas apenas com o solvente (etanol), e as células que foram tratadas com diferentes concentrações de curcumina e ácido ascórbico separadamente, não apresentaram nenhuma diferenciação na morfologia. Porém, as células que foram tratadas com a

associação da curcumina com o ácido ascórbico apresentaram alterações morfológicas (Tabela 1), algumas alterações ocorreram de maneira bastante discreta, mas em intensidade suficiente para mostrar diferenças em relação aos controles.

A análise dos resultados obtidos permitiu observar que a associação das duas substâncias provocou alterações morfológicas na maioria das amostras, mesmo que de maneira discreta, com exceção na associação da maior concentração de curcumina (C1 = 30 μM) com a menor concentração de ácido ascórbico (V6 = 0,39 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) (Tabela 1).

Amostra	Análise morfológica
Controle	Normal
Controle etanol	Normal
V1 a V6	Normal
C1 a C4	Normal
V1C1	Vacuolização, arredondamento e retração do citoplasma discretos
V1C2 e V1C3	Vacuolização e arredondamento discretos
V1C4	Sem alterações
V2C1	Vacuolização, arredondamento e retração do citoplasma discretos
V2C2 e V2C4	Normal
V2C3	Vacuolização discreta
V3C1	Vacuolização, arredondamento e retração do citoplasma discretos
V3C2	Vacuolização e arredondamento discretos
V3C3 e V3C4	Vacuolização
V4C1 e V4C2	Vacuolização e arredondamento discretos
V4C3 e V4C4	Vacuolização discreta
V5C1	Vacuolização e arredondamento discretos
V5C2, V5C3 e V5C4	Vacuolização discreta
V6C1	Vacuolização, arredondamento e retração do citoplasma acentuados
V6C2, V6C3 e V6C4	Vacuolização discreta

Tabela 1: Análise morfológica no ensaio de atividade citotóxica da curcumina (C) em associação ao ácido ascórbico (V) sobre células de linhagem tumoral HRT-18 no período de 24 horas. C1 (30 μM); C2 (20 μM); C3 (15 μM); C4 (10 μM); V1 (12,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), V2 (6,25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), V3 (3,125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), V4 (1,56 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), V5 (0,78 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e V6 (0,39 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

Com os dados obtidos por meio do ensaio com MTT foi possível observar um possível sinergismo quando utilizado o ácido ascórbico em associação à curcumina (Figura 1).

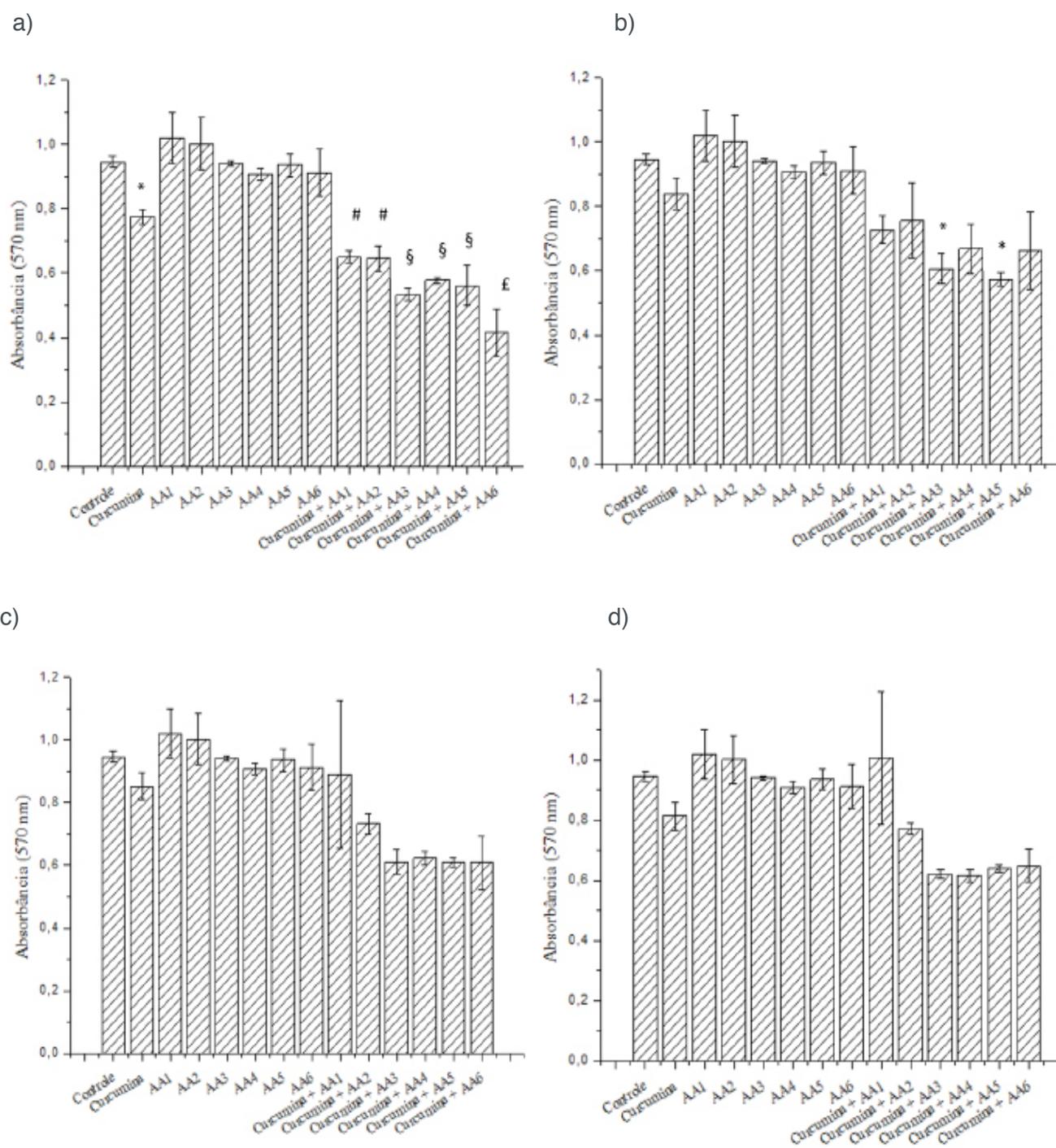


Figura 1: Associação curcumina / ácido ascórbico (AA) testada em células HRT-18 no período de 24h. a) Curcumina 30 μM ; b) Curcumina 20 μM ; c) Curcumina 15 μM ; d) Curcumina 10 μM . AA1 (12,5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), AA2 (6,25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), AA3 (3,125 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), AA4 (1,56 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), AA5 (0,78 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) e AA6 (0,39 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). *, #, § e £ apresentaram diferença estatística entre si e em relação ao controle ($p < 0,05$).

Na figura 1 foi possível observar uma ação sinérgica do ácido ascórbico (3,125 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e 0,78 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) com a curcumina, apresentando diferença em relação a ação da curcumina utilizada de maneira isolada. Na análise de 24 horas das ações da curcumina nas concentrações de 15 μM e 10 μM , quando associado o ácido ascórbico não houve uma diferença significativa em relação à ação delas de maneira isolada (Figura 1).

Nas análises morfológicas das células HRT-18 no período de 48 horas (Tabela 2), assim como nas células observadas em 24 horas, os controles e as substâncias utilizadas isoladamente não apresentaram alterações na morfologia. As associações do ácido ascórbico com a curcumina promoveram alterações morfológicas em quase todas as associações, com exceção de V1C3 e V1C4, ou seja, ácido ascórbico (V1) na concentração de $12,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e curcumina (C3 e C4) nas concentrações de $15 \mu\text{M}$ e $10 \mu\text{M}$.

A maior alteração morfológica neste período de tempo ocorreu na associação V3C1, com o ácido ascórbico na concentração de $3,125 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (V3) e a curcumina (C1) de $40 \mu\text{M}$, o que foi confirmado pela avaliação de citotoxicidade por meio método de MTT, demonstrando que houve uma maior morte celular nesta associação (Figura 2).

Amostra	Análise morfológica
Controle	Normal
Controle etanol	Normal
V1 a V6	Normal
C1 a C4	Normal
V1C1 e V1C2	Vacuolização discreta
V1C3 e V1C4	Normal
V2C1, V2C2, V2C3 e V2C4	Vacuolização discreta
V3C1	Arredondamento, retração do citoplasma e debris celular
V3C2, V3C3 e V3C4	Vacuolização discreta
V4C1	Vacuolização e arredondamento discretos
V4C2, V4C3 e V4C4	Vacuolização
V5C1, V5C2 e V5C3	Vacuolização e arredondamento discreto
V5C4	Vacuolização
V6C1 e V6C2	Vacuolização, arredondamento discreto
V6C3 e V6C4	Vacuolização

Tabela 2: Análise morfológica no ensaio de atividade citotóxica da curcumina (C) em associação ao ácido ascórbico (V) sobre células de linhagem tumoral HRT-18 no período de 48 horas. C1 ($30 \mu\text{M}$); C2 ($20 \mu\text{M}$); C3 ($15 \mu\text{M}$); C4 ($10 \mu\text{M}$); V1 ($12,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$), V2 ($6,25 \mu\text{g.mL}^{-1}$), V3 ($3,125 \mu\text{g.mL}^{-1}$), V4 ($1,56 \mu\text{g.mL}^{-1}$), V5 ($0,78 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e V6 ($0,39 \mu\text{g.mL}^{-1}$).

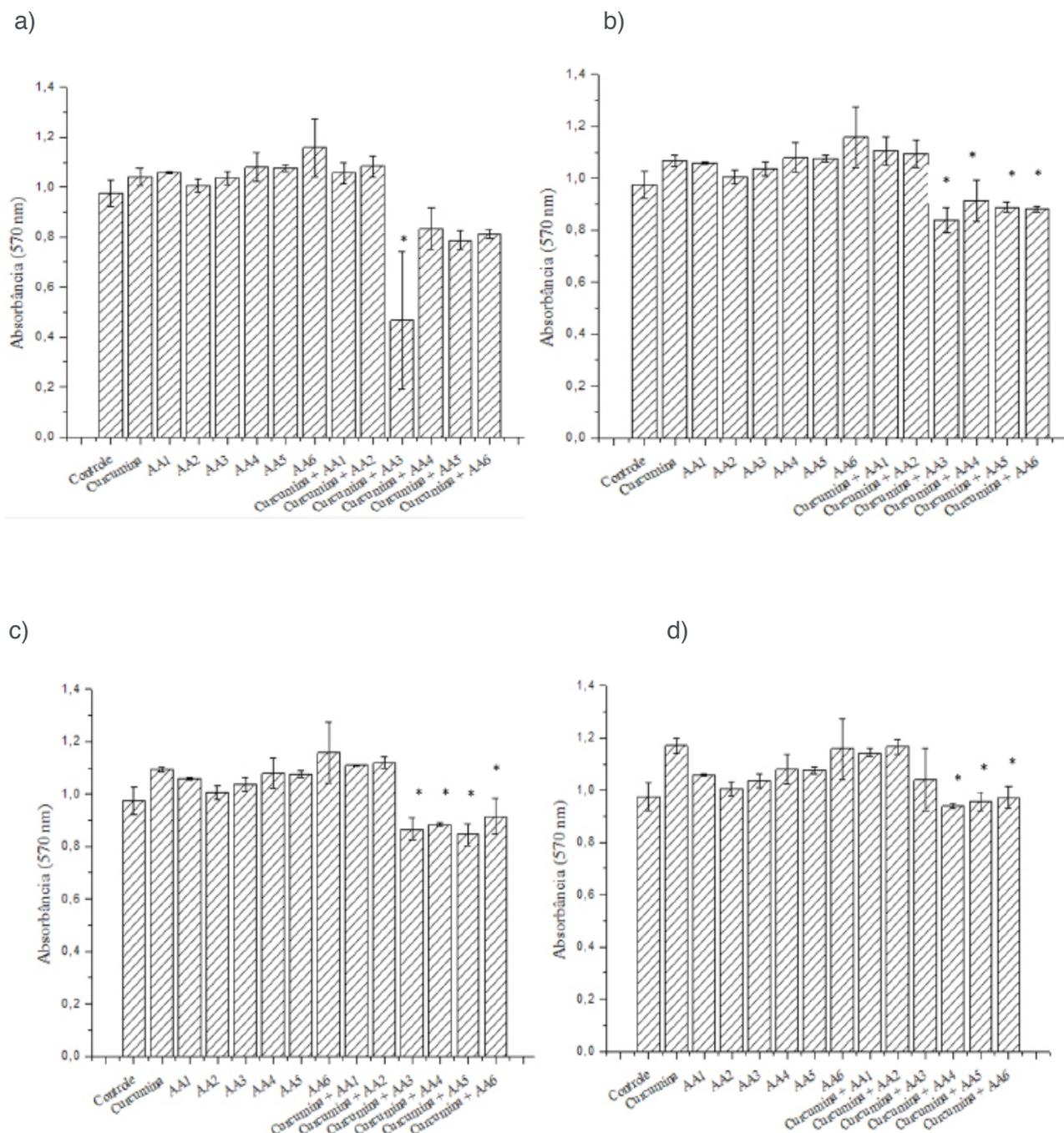


Figura 2: Associação curcumina / ácido ascórbico (AA) testada em células HRT-18 no período de 48h. a) Curcumina 30 μM; b) Curcumina 20 μM; c) Curcumina 15 μM; d) Curcumina 10 μM. AA1 (12,5 μg.mL⁻¹), AA2 (6,25 μg.mL⁻¹), AA3 (3,125 μg.mL⁻¹), AA4 (1,56 μg.mL⁻¹), AA5 (0,78 μg.mL⁻¹) e AA6 (0,39 μg.mL⁻¹). * apresentou diferença estatística em relação ao controle (p < 0,05).

4 | DISCUSSÃO

A maneira de prevenir que ocorram metástases de um foco inicial em um tumor é o diagnóstico precoce, sendo de extrema importância esse diagnóstico precoce no caso dos tumores colorretais, os quais acometem tanto o cólon (segmento do intestino grosso) quanto o reto, pois possibilita uma melhor chance de cura (INCA 2016). Uma característica deste tipo de tumor é uma elevada expressão do gene que regula a COX-2 (DUBOIS; SMALLEY 1996), sendo que a mesma pode estar mais elevada

quando o pH do meio intracelular estiver mais alcalino (PIRKEBNER et al. 2004).

Para o tratamento de tumor colorretal, por exemplo, a linhagem de células HRT-18, podem ser utilizadas substâncias com atividade antitumoral conhecida, como o 5-fluorouracil (CONDE et al., 2013) podendo-se associar com oxaliplatina, porém existem alguns efeitos que fazem com que o tratamento seja mais desgastante para o paciente pela alta quantidade de efeitos colaterais (PUCCIARELLI et al., 2006). Uma alternativa promissora para o tratamento de tumores colorretais é a curcumina, pois além de possuir atividade antitumoral, também age na inibição da expressão do gene regulador da COX-2 (AGGARWAL; KUMAR; BHARTI, 2003; ANAND et al., 2008; WILKEN et al., 2011), enzima que está em concentração elevada nestes tipos de tumores (DUBOIS; SMALLEY, 1996).

Como o ácido ascórbico possui a capacidade de induzir apoptose nesta linhagem de células tumorais (KIM; KANG; LEE, 2012) e em outras variações do meio onde se encontram as células tumorais, como na redução da expressão gênica da COX-2 (PIRKEBNER et al., 2004), este passa a ser uma alternativa como adjuvante à atividade antitumoral da curcumina.

Com a análise dos dados obtidos nesse estudo, foi possível verificar que a associação entre o ácido ascórbico e a curcumina em determinadas concentrações demonstraram uma melhora na atividade frente as células tumorais, sendo interessante que os melhores resultados foram quando houveram as associações da curcumina com as menores concentrações de ácido ascórbico. Esse resultado pode ter ocorrido devido a proteção contra a degradação da curcumina em meio fisiológico que o ácido ascórbico promoveu (OETARI et al., 1996), ou seja, pela possível ação no favorecimento da apoptose das células tumorais (KIM; KANG; LEE, 2012).

5 | CONCLUSÃO

Com a associação da curcumina ao ácido ascórbico foi possível concluir que a atividade frente a linhagem tumoral HRT-18 foi melhorada, uma vez que a atividade da associação foi melhor do que a atividade dos compostos isolados. A associação pode ter acarretado uma proteção da degradação da curcumina em meio fisiológico, fato esse realizado pelo ácido ascórbico, o qual permitiu uma estabilidade maior da curcumina possibilitando uma maior atividade, e também outro ponto interessante é a maior sensibilidade que a linhagem celular HRT-18 possui frente ao ácido ascórbico, o qual pode induzir a apoptose nas mesmas. A associação da curcumina ao ácido ascórbico demonstrou ser promissora, porém, mais testes são necessários para a comprovação da eficácia dessa associação.

REFERÊNCIAS

- AGGARWAL, B. B.; HARIKUMAR, K. B. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 41, n. 1, p. 40–59, 2009.
- AGGARWAL, B. B.; KUMAR, A.; BHARTI, A. C. Anticancer potential of curcumin: Preclinical and clinical studies. **Anticancer Research**, v. 23, n. 1 A, p. 363–398, 2003.
- ANAND, P. et al. Curcumin and cancer: An “old-age” disease with an “age-old” solution. **Cancer Letters**, v. 267, n. 1, p. 133–164, 2008.
- BARGAGLI, E. et al. Oxidative stress in the pathogenesis of diffuse lung diseases: A review. **Respiratory Medicine**, v. 103, n. 9, p. 1245–1256, 2009.
- CONDE, S. et al. Neoadjuvant oral vs. infusional chemoradiotherapy on locally advanced rectal cancer: Prognostic factors. **Reports of Practical Oncology and Radiotherapy**, v. 18, n. 2, p. 67–75, 2013.
- DUBOIS, R. N.; SMALLEY, W. E. Cyclooxygenase, NSAIDs, and colorectal cancer. **Journal of Gastroenterology**, v. 31, n. 6, p. 898–906, 1996.
- FRANCO, R. et al. Environmental toxicity, oxidative stress and apoptosis: Ménage à Trois. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 674, n. 1–2, p. 3–22, 2009.
- GOEL, A.; KUNNUMAKKARA, A. B.; AGGARWAL, B. B. Curcumin as “Curecumin”: From kitchen to clinic. **Biochemical Pharmacology**, v. 75, n. 4, p. 787–809, 2008.
- HOPPS, E. et al. A novel component of the metabolic syndrome: The oxidative stress. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 20, n. 1, p. 72–77, 2010.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **INCA - Instituto Nacional de Câncer - Estimativa 2016**. [s.l.: s.n.].
- KIM, J. E.; KANG, J. S.; LEE, W. J. Vitamin C induces apoptosis in human colon cancer cell line, HCT-8 via the modulation of calcium influx in endoplasmic reticulum and the dissociation of bad from 14-3-3 β . **Immune Network**, v. 12, n. 5, p. 189–95, 2012.
- KÖSTEL, A. S.; BORA-TATAR, G.; ERDEM-YURTER, H. Spinal muscular atrophy: An oxidative stress response counteracted with curcumin. **Biomedicine & Aging Pathology**, v. 2, n. 2, p. 61–66, 2012.
- KUNNUMAKKARA, A. B.; ANAND, P.; AGGARWAL, B. B. Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. **Cancer Letters**, v. 269, n. 2, p. 199–225, 2008.
- LI, X.; FRANKE, A. A. Fast HPLC-ECD analysis of ascorbic acid, dehydroascorbic acid and uric acid. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 877, n. 10, p. 853–856, 2009.

- MORIBE, K. et al. Drug nanoparticle formulation using ascorbic acid derivatives. **Journal of Drug Delivery**, v. 2011, p. 1–9, 2011.
- OETARI, S. et al. Effects of curcumin on cytochrome P450 and glutathione S-transferase activities in rat liver. **Biochemical Pharmacology**, v. 51, n. 1, p. 39–45, 1996.
- PIRKEBNER, D. et al. Reduction of Intracellular pH Inhibits Constitutive Expression of Cyclooxygenase-2 in Human Colon Cancer Cells. **Journal of Cellular Physiology**, v. 198, n. 2, p. 295–301, 2004.
- PRIYADARSINI, K. I. Photophysics, photochemistry and photobiology of curcumin: Studies from organic solutions, bio-mimetics and living cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 10, n. 2, p. 81–95, 2009.
- PUCCIARELLI, S. et al. 5-Fluorouracil and Weekly Oxaliplatin Combined with Radiotherapy for Locally Advanced Rectal Cancer: Surgical Complications and Long-term Results. **Archives of Medical Research**, v. 37, n. 7, p. 860–865, 2006.
- REUTER, S. et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 11, p. 1603–1616, 2010.
- ROSENFELDT, F. et al. Oxidative stress in surgery in an ageing population: Pathophysiology and therapy. **Experimental Gerontology**, v. 48, n. 1, p. 45–54, 2013.
- SA, G.; DAS, T. Anti cancer effects of curcumin: Cycle of life and death. **Cell Division**, v. 3, p. 14, 2008.
- SAHU, S. C.; WASHINGTON, M. C. Effect of ascorbic acid and curcumin on quercetin-induced nuclear DNA damage, lipid peroxidation and protein degradation. **Cancer Letters**, v. 63, n. 3, p. 237–241, 1992.
- SHAIKH, J. et al. Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3–4, p. 223–230, 2009.
- STOCKERT, J. C. et al. MTT assay for cell viability: Intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets. **Acta Histochemica**, v. 114, n. 8, p. 785–796, 2012.
- WILKEN, R. et al. Curcumin: A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma. **Molecular Cancer**, v. 10, n. 12, p. 2–19, 2011.

NEUROTOXICIDADE INDUZIDA PELA CARAMBOLA (*AVERRHOA CARAMBOLA L.*) EM PACIENTES QUE APRESENTAM LESÃO RENAL

Yasmim Dayane Leal Paixão

Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita), Caruaru - Pernambuco

Jamicelly Rayanna Gomes da Silva

Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita), Caruaru - Pernambuco

Maria Eduarda Silva Amorim

Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita), Caruaru - Pernambuco

Joice Luiza Pereira da Silva

Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita), Caruaru - Pernambuco

Izabella Cinthia Tôrres de Vasconcelos

Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita), Caruaru - Pernambuco

Risonildo Pereira Cordeiro

Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita), Caruaru - Pernambuco

Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo

Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita), Caruaru - Pernambuco

RESUMO: Tendo em vista estudos e relatos da existência de neurotoxicidade induzida pela espécie *Averrhoa carambola* L. em pacientes com lesão renal, a pesquisa teve como objetivo utilizar-se de literatura científica para realizar um estudo retrospectivo sobre o assunto. As publicações estudadas foram selecionadas através de bases de dados como SCIELO e

Portal CAPES, além dos artigos referenciados em monografias desenvolvidas pelo Centro de Informações sobre Plantas Medicinais (CIPLAM), localizado no Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita). Evidenciou-se que a carambola apresenta em sua composição uma neurotoxina que apresenta relação com a inibição sobre o sistema GABAérgico, principalmente em pacientes acometidos por lesões renais. Estes, não excretam-na adequadamente levando a uma elevação da mesma no organismo, o que aumenta sua passagem pela barreira hematoencefálica e como consequência, observamos os resultados de sua ação no Sistema Nervoso Central.

PALAVRAS-CHAVE: Doença renal. *Averrhoa*. Carambola. Neurotoxina.

ABSTRACT: Given the studies and reports on the existence of neurotoxicity induced by the species *Averrhoa carambola* L. in patients with renal injury, the research aimed to carry out a retrospective study on this subject by means of scientific literature. The studied publications were selected through databases, such as SCIELO and CAPES portal, in addition to papers referenced in monographs developed by the Medicinal Plants Information Center (CIPLAM), located at the Tabosa de Almeida University Center (Asces-Unita). It has become evident that the star fruit has in its composition

a neurotoxin which is related to the inhibition of the GABAergic system, mainly in patients affected by renal injuries. These patients do not excrete it properly leading to an increase in its concentration on the organism, which intensifies its passage through the blood-brain barrier and as a result the consequences of its action in the Central Nervous System can be observed.

KEYWORDS: Renal disease. *Averrhoa*. Star Fruit. Neurotoxin.

1 | INTRODUÇÃO

Uma das lesões renais mais estudadas é a Doença Renal Crônica (DRC), que de acordo com De Oliveira, Guerra e Dias (2010) trata-se da perda progressiva e irreversível das funções renais: glomerular, tubular e endócrina. Ela é clinicamente dividida em seis estágios, que incorporam desde a fase zero, até a fase cinco. A fase zero considera indivíduos que não possuem lesão renal, mantém sua função renal normal, mas estão presentes no grupo de risco; enquanto a fase cinco abrange os indivíduos que apresentam lesão renal e insuficiência renal terminal ou dialítica (BRASIL apud DE OLIVEIRA, GUERRA e DIAS, 2010).

A ingestão da espécie *Averrhoa carambola* L. por pacientes portadores de DRC está relacionada ao aparecimento de sintomas neurológicos (NETO, et al., 2004). A espécie cujo nome popular é carambola, pertence à família oxalidaceae e é encontrada nas regiões tropicais, sendo originária da Ásia (CUPPARI, AVESANI e KAMIMURA apud DE OLIVEIRA e DE AGUIAR, 2015). Recebe o nome de *star fruit* na literatura inglesa graças ao formato de estrela que apresenta quando cortada transversalmente. É aclimatada em diversos países tropicais e apresenta 5 ou 6 proeminências longitudinais além de chegar a medir entre 6 e 13 centímetros (NETO, et al., 2004).

A publicação de Martin et al., em 1993 no Jornal Brasileiro de Nefrologia, relata que em agosto de 1990 carambolas foram oferecidas indevidamente a 18 pacientes renais crônicos em tratamento dialítico no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP e à equipe de saúde (BARRETTI, 2015). Nas primeiras 12 horas após a ingestão, 80% dos pacientes desenvolveram soluço. Os 20% que não apresentaram o sintoma, haviam passado pelo processo de hemodiálise antes da ingestão. Aqueles que recusaram a fruta (8 pacientes), não apresentaram sintomatologia, bem como os integrantes da equipe de saúde. E desta forma foi feita a primeira descrição clínica dos efeitos tóxicos da ingestão de *Averrhoa carambola* L. em pacientes com doença renal crônica (BARRETTI, 2015).

2 | METODOLOGIA

O presente trabalho foi baseado em pesquisa descritiva bibliográfica. Apresentou-se com intuito de realizar um estudo retrospectivo através de literatura científica sobre a neurotoxina produzida pela *Averrhoa carambola* L. em pacientes com lesão renal.

Os trabalhos científicos foram selecionados através de bases de dados como Scielo e Portal CAPES, e foram utilizados também artigos referenciados em monografias desenvolvidas pelo Centro de Informações sobre Plantas Mediciniais (CIPLAM), localizado no Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita).

Apresentando como critérios de inclusão artigos originais, revisões de literatura, relatos de caso, dissertações e teses, nas línguas inglesa e portuguesa, datados de 1980 a 2017. Publicações estas que referiam-se somente a espécie, a espécie relacionada a lesões renais e/ou que descrevessem as lesões. Assim como periódicos que falassem sobre a neurotoxina. Como critério de exclusão, quaisquer periódicos que não apresentassem informações necessárias ou relevantes para o estudo.

3 | AVERRHOA CARAMBOLA L. (CARAMBOLA)

Dasgupta, Chakraborty e Bala (2013) afirmam que a fitoterapia é a forma mais antiga de cuidados com a saúde conhecidos pela humanidade. É perceptível o aumento do número de pesquisas voltadas para a área de plantas medicinais, seja para analisar as atividades farmacológicas já descritas na literatura ou descobrir novas. Além de estudos voltados para compostos específicos, sejam eles tóxicos ou não. Dessa mesma forma, a espécie *Averrhoa carambola* L. foi e ainda é bastante estudada. São existentes as pesquisas sobre o seu uso medicinal, principalmente ligados a cultura indiana e chinesa.

Dasgupta, Chakraborty e Bala (2013) afirmam que:

Na Índia, as frutas maduras ou seu suco, são usados como antipirético, laxante, estimulante de apetite, sialogogo e adstringente. No Brasil, a fruta é recomendada como diurético e para problemas relacionados com a bexiga. Na matéria médica chinesa, é usada para saciar a sede e aumentar a secreção de saliva.

Segundo Bastos (2004) o suco da carambola pode ser utilizado como febrífugo, anti escorbútico e antidisentérico. Usos como agente digestivo, tônico, para tratamento de inflamação de garganta, úlcera bucal e dor de dente também são descritos. Além de ser usada para aliviar estomatite aftosa, soluços, diarreia, esplenomegalia malárica, erupções cutâneas e prurido. Para remoção de manchas diversas, é utilizado o sumo de suas sementes; enquanto suas flores são consumidas em pratos exóticos, e as folhas fazem parte da farmacopéia indiana (BASTOS, 2004).

Seu potencial anti hiperglicemiante tem sido um dos mais pesquisados atualmente, já que suas folhas são utilizadas na fabricação do fitoterápico Glico-Vitae® (PROVASI et al., 2001). Vários estudos fitoquímicos têm sido relatados ao longo dos anos, contudo, autores como Dasgupta, Chakraborty e Bala (2013), concluíram ao fim de suas pesquisas que mais investigações são necessárias para explorar os compostos bioativos da *A. carambola* L. Afinal, bem como todas as plantas, drogas e substâncias utilizadas na terapêutica, a espécie apresenta seus efeitos adversos e tóxicos.

4 | A DOENÇA RENAL CRÔNICA E A CARAMBOLA

A morbimortalidade em estágio terminal da Doença Renal Crônica (DRC) tem aumentado progressivamente a cada ano (VANELLI, DO AMARAL CORRÊA e DO AMARAL CORRÊA, 2014). Sua prevalência e sua evolução para estágios mais graves tem crescido, visto que trata-se de um processo insidioso que evolui sem grande sintomatologia durante anos até atingir fases finais (RIELLA apud DE OLIVEIRA, GUERRA e DIAS, 2010). A DRC é uma lesão caracterizada por alterações estruturais ou funcionais nos rins, podendo se manifestar por alterações patológicas ou indícios de lesão renal em exames diagnósticos, ocasionando ou não redução da taxa de filtração glomerular (SOARES et al., 2017). A incidência e a prevalência desta doença, no Brasil, apresentou um crescimento de 2,3 vezes no período de 2000 a 2012 (PEREIRA et al., 2015).

A deficiência na filtração, conseqüentemente levando à não eliminação completa ou correta de metabólitos excretados via renal, fez com que alguns pesquisadores passassem a sugerir que, na carambola, devesse existir alguma substância de excreção renal responsável pelos sintomas apresentados e descritos no Brasil, pela primeira vez, através da publicação de Martin et al., (1993). Anterior a este relato, o único resultado existente publicado sobre a observação era o de Muir e Lam (1980), referente a um estudo experimental, onde ratos normais foram submetidos a aplicação intraperitoneal de extrato da espécie. De acordo com os autores, o periódico escrito descrevia na verdade uma tentativa de determinar se a *star fruit* continha qualquer agente com ação farmacológica depressora.

A ideia surgiu já que os herbalistas chineses utilizavam preparações com a espécie *A. carambola* na tentativa de tratar males como dores de cabeça, vômito, tosse e inquietação (WOEI apud MUIR e LAM, 1980). Porém, eles descreveram parte de seus resultados da seguinte maneira:

Observações brutas: Em qualquer dose, o extrato de carambola nunca causou inconsciência recuperável de camundongos. Doses acima de 8 g/kg causaram convulsões seguidas de morte após um ou dois minutos, o tempo entre a administração intraperitoneal e morte foi de 10-15 minutos. Até a morte, os animais permaneceram conscientes e, embora exibindo ataxia, foram capazes de movimentar-se. Eles também responderam normalmente a estímulos dolorosos, como beliscar a cauda. Assim o extrato de carambola não produziu anestesia ou analgesia.

Em 1998 os pesquisadores Neto, Robl e Netto descreveram insônia, soluços, agitação psicomotora e morte a partir de seis casos de intoxicação por carambola. Os seis pacientes encontravam-se estáveis e participando de um programa regular de diálise, quando ingeriram de 2 à 3 frutas ou 150 à 200 ml de suco da fruta (NETO, ROBL e NETTO, 1998). A partir daí consolidou-se a hipótese de que a espécie apresentava uma substância de natureza neurotóxica (BARRETTI, 2015). Apesar disto, ainda não haviam explicações concretas sobre o motivo pelo qual o consumo de *Averrhoa carambola* causava efeitos tóxicos (DE OLIVEIRA e DE AGUIAR, 2015).

5 | CARAMBOXINA

O termo caramboxina é conhecido por ser a denominação dada a neurotoxina encontrada na espécie *Averrhoa carambola* L. Carolino et al., (2005) acredita que ela é um metabólito secundário presente em uma fração de aminoácido que foi chamada AcTx, e é o metabólito responsável pelo envenenamento de pacientes com insuficiência renal crônica após a ingestão de *star fruit*. Seria ela uma substância hidrossolúvel, e, portanto, excretada pela urina em indivíduos saudáveis (QUINTILIANO, 2010).

Segundo Bozzini (2015), no ano de 2002 o ácido oxálico foi indicado como um dos possíveis responsáveis pela toxicidade da fruta. O envenenamento em humanos hipoteticamente seria resultado do sequestro de cálcio pelo ácido oxálico, formando oxalato de cálcio. Este, sendo um cristal insolúvel, se acumula no rins provocando obstrução dos túbulos renais. Os sintomas seriam explicados já que a diminuição dos níveis séricos de cálcio ocasiona problemas de contração muscular e coagulação sanguínea (BOZZINI, 2015). Contudo, Moyses-Neto citado por Bozzini (2015), botou em questão que alimentos que apresentam níveis de ácido oxálico similares ou até superiores ao da carambola, não induzem este tipo de intoxicação em pacientes urêmicos. Um exemplo destes alimentos é o espinafre.

A publicação de Martin et al., em 1993, sugeriu que a neurotoxina, na época ainda não nomeada, apresentava inibição sobre o sistema GABAérgico, que é formado por neurônios que contém ácido gama-aminobutírico (GABA). Forman et al., citado por De Oliveira e De Aguiar (2015) citam que:

As membranas celulares da maioria dos neurônios e astrócitos do Sistema Nervoso Central (SNC) expressam receptores de GABA, que diminuem a excitabilidade neuronal através de vários tipos de mecanismos. Em virtude de sua distribuição disseminada, os receptores de GABA influenciam muitos circuitos e funções neurais.

Estudos farmacológicos comprovaram a afirmativa e acrescentaram ainda que existe a interferência em sistemas glutamatérgicos. A interferência em ambos os sistemas pode explicar a indução de convulsões em ratos e camundongos, posto que o glutamato é o principal neurotransmissor excitatório e o ácido gama-aminobutírico é o principal neurotransmissor inibitório no córtex dos mamíferos (BOZZINI, 2015). É provável que a toxina atue como antagonista do GABA ou agonista do glutamato, resultando em estimulação intensa, que se manifesta na forma de convulsões (CAROLINO et al., 2005).

A intoxicação é observada em pacientes que apresentam DRC graças a hidrossolubilidade da caramboxina. Sendo ela excretada por via renal, fica evidente a ausência de sua total excreção em pacientes acometidos por doença renal crônica. O mau funcionamento dos rins ocasiona o acúmulo da molécula no sangue, a níveis suficientes para ultrapassagem da mesma pela barreira hematoencefálica (CAROLINO et al., 2005). Por esta razão, enxergamos seus efeitos no SNC (soluços, convulsões, confusão mental, agitação psicomotora) e a denominamos de neurotoxina.

Todos os estudos já realizados descrevem e afirmam toxicidade existente na espécie carambola, mesmo aqueles que não citam a caramboxina propriamente dita, fornecendo evidências que sugerem a recomendação contra o consumo desta fruta por pacientes com doença renal crônica (TSE et al. apud ARANGUREN, VERGARA e ROSSELLI, 2017). Aranguren, Vergara e Rosselli (2017) afirmam ainda que:

Dado o aumento da disponibilidade de carambola e observado o crescimento de sua popularidade em todo o mundo, é importante levantar conscientização dos efeitos nocivos que o seu consumo pode ter na função renal, não só em doentes com insuficiência renal mas também em pessoas aparentemente saudáveis.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ainda que diversas pesquisas tenham sido desenvolvidas para chegar ao real culpado pelos envenenamentos, foi necessário que diversos pacientes consumissem a espécie, sabendo ou não dos riscos, sofressem os efeitos da intoxicação e muitas vezes chegassem a óbito, para permitir o avanço científico sobre uma neurotoxina não completamente compreendida como tantas outras existentes. É através de casos e situações como essas que se enxerga o valor de estudos toxicológicos e fitoquímicos em torno de espécies ditas medicinais, mesmo aquelas de uso obsoleto, na maioria das vezes por conhecimento empírico.

Fica claro mais uma vez que o uso de plantas medicinais é uma forma terapêutica que pode ser não eficaz, eficaz ou fatal, a depender de como utilizada. Forma terapêutica esta que precisa ser mais estudada, para permitir que os profissionais da área da saúde estejam cada vez mais aptos a orientar a população sobre o seu uso racional, bem como o uso dos demais medicamentos.

REFERÊNCIAS

ARANGUREN, C.; VERGARA, C.; ROSSELLI, D. **Toxicity of star fruit (Averrhoa carambola) in renal patients: A systematic review of the literature.** Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation, v. 28, n. 4, p. 709, 2017.

BARRETTI, P. **Intoxicação por carambola em pacientes com doença renal crônica: da primeira descrição clínica à caramboxina.** CEP, v. 18618, p. 000, 2015.

BASTOS, D. C. **A cultura da carambola.** Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal, v. 26, n. 2, Aug. 2004.

BOZZINI, Leandro Alves. **Estudos sintéticos visando à preparação da caramboxina, um alfa-aminoácido com potencial atividade biológica.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2015.

CAROLINO, R. O. G. et al. **Convulsant activity and neurochemical alterations induced by a fraction obtained from fruit Averrhoa carambola (Oxalidaceae: Geraniales).** Neurochemistry international, v. 46, n. 7, p. 523-531, 2005.

DASGUPTA, P.; CHAKRABORTY, P.; BALA, N. N. **Averrhoa carambola: an updated review**. International Journal of Pharma Research & Review, v. 2, n. 7, p. 54-63, 2013.

DE OLIVEIRA, D. G.; GUERRA, W. L.; DIAS, S. B. **Percepção do portador de insuficiência renal crônica acerca da prevenção da doença**. Revista Enfermagem Integrada – Ipatinga: Unileste-MG - V.3 - N.2 - Nov./Dez. 2010.

DE OLIVEIRA, E. S. M.; DE AGUIAR, A. S. **Por que a ingestão de carambola é proibida para pacientes com doença renal crônica?**. Jornal Brasileiro de Nefrologia, v. 37, n. 2, p. 241-247, 2015.

MARTIN, L. C. et al. **Solução intratável desencadeado por ingestão de carambola (“Averrhoa carambola”) em portadores de insuficiência renal crônica**. J Bras Nefrol, v. 15, p. 92-4, 1993.

MUIR, C. K.; LAM, C. K. **Depressant action of Averrhoa carambola**. Med J Malaysia, v. 34, n. 3, p. 279-80, 1980.

NETO, M. M.; ROBL, F.; NETTO, J. C. **Intoxication by star fruit (Averrhoa carambola) in six dialysis patients? (Preliminary report)**. Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association-European Renal Association, v. 13, n. 3, p. 570-572, 1998.

NETO, M. M. et al. **Intoxicação por carambola (averrhoa carambola) em quatro pacientes renais crônicos pré-dialíticos e revisão da literatura**. J Bras Nefrol, v. 4, p. 228-232, 2004.

PEREIRA, E. R. S. et al. **Prevalência de doença renal crônica em adultos atendidos na Estratégia de Saúde da Família**. Jornal Brasileiro de Nefrologia, v. 38, n. 1, p. 22-30, 2015.

PROVASI, M. et al. **Avaliação da toxicidade e do potencial antihiperlicemiante da Averrhoa carambola L.(Oxalidaceae)**. Acta Scientiarum. Health Sciences, v. 23, p. 665-669, 2001.

QUINTILIANO, Samir Augusto Pino. **Reação de álcoois homoalíficos com tálio (III), iodo e iodo hipervalente, dicloração de cetonas e estudos visando à síntese total da caramboxina**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2010.

SOARES, F. C. et al. **Prevalência de hipertensão arterial e diabetes mellitus em portadores de doença renal crônica em tratamento conservador do serviço ubaense de nefrologia**. Revista Científica FAGOC-Saúde, v. 2, n. 2, p. 21-26, 2017.

VANELLI, C. P.; DO AMARAL CORREA, T. H.; DO AMARAL CORREA, J. O. **Carambola (Averrhoa carambola): sua neurotoxicidade e abordagens terapêuticas**. HU Revista, v. 40, n. 3 e 4, 2014.

TOXICIDADE DE *ECHINACEA PURPUREA* FRENTE À *ARTEMIA SALINA*

Denise Michelle Indras

UNIOESTE, Laboratório de Toxicologia Celular,
Cascavel – Paraná

Julio Cezar dos Santos

UNIOESTE, Laboratório de Toxicologia Celular,
Cascavel – Paraná

Priscila da Caz

UNIOESTE, Laboratório de Toxicologia Celular,
Cascavel – Paraná

Victor Mateus Prasniewski

UNIOESTE, Laboratório de Toxicologia Celular,
Cascavel – Paraná

Fernanda Coleraus Silva

UNIOESTE, Laboratório de Toxicologia Celular,
Cascavel – Paraná

Ana Maria Itinose

UNIOESTE, Centro de Assistência em Toxicologia
- CEATOX/HUOP, Cascavel – Paraná

RESUMO: *Echinacea purpurea* (L.) Moench, conhecida como equinácea, é amplamente utilizada no tratamento de inflamações e infecções do trato respiratório e urinário, da mucosa oral e da pele. Apresenta propriedades imunoestimulante, anti-inflamatória, protetor do colágeno, antimicrobiana e antiviral, por isso seu uso popular. Possui alcaloides, glicoproteínas, ácido cafeico, echinosídeos, polissacarídeos, óleo essencial, ácidos graxos, proteínas, taninos, flavonóides, vitaminas A, C e E. Este

trabalho teve como objetivo analisar a toxicidade de *E. purpurea* frente ao microcrustáceo *Artemia salina*. Para o experimento foi utilizado extrato hidroalcoólico de equinácea a 50%, foi realizada caracterização fitoquímica do extrato e bioensaio com o microcrustáceo. O extrato de equinácea apresentou saponinas e taninos. A CL_{50} para o extrato de equinácea foi de 0,0625 mg.mL⁻¹. O ensaio de toxicidade à *A. salina* mostrou sensibilidade do microcrustáceo ao extrato de equinácea.

PALAVRAS-CHAVE: Equinácea; microcrustáceo; toxicologia;

ABSTRACT: *Echinacea purpurea* (L.) Moench, known as echinacea, is widely used in the treatment of inflammations and infections of the respiratory and urinary tract, oral mucosa and skin. It presents immunostimulating, anti-inflammatory, collagen protection, antimicrobial and antiviral properties, so its use is popular. The objective of this work was to evaluate the toxicity of *E. purpurea* to the brine shrimp *Artemia salina*. To the test was used the hydroalcoholic extract of echinacea in 50%, the phytochemical characterization of the extract and bioassay with the brine shrimp were performed. The echinacea extract has saponins and tannins. The CL_{50} for echinacea extract was 0.0625 mg.mL⁻¹. The *A. salina* toxicity test showed sensitivity of brine shrimp to echinacea extract.

KEYWORDS: Echinacea; brine shrimp; toxicology;

1 | INTRODUÇÃO

A *Echinacea purpurea* (L.) Moench, Figura 1, conhecida como equinácea, é popularmente utilizada no tratamento de resfriado, bronquite, gripe, estomatite, faringite, infecções do trato urinário, ferimentos e queimaduras. Os estudos químico-farmacológicos com a planta levaram ao estabelecimento científico de suas propriedades imunestimulante, anti-inflamatória, protetor do colágeno, antimicrobiana e antiviral, o que justifica o seu uso. Possui como princípios ativos alcamidas, glicoproteínas, ácido cafeico, echinosídeos, polissacarídeos, óleo essencial, ácidos graxos, proteínas, taninos, vitaminas A, C e E (LORENZI e MATOS, 2008) e flavonóides (KURKIN et al, 2011).



Figura 1. Foto da espécie vegetal *E. purpurea*.

Fonte: <https://s-media-cache-ak0.pinimg.com/originals/98/2c/ca/982ccae39298b2292921176ed4593785.jpg>

Diversos experimentos demonstraram que os extratos de *E. purpurea* possuem atividades imunomoduladoras. Entre as muitas propriedades farmacológicas relatadas, a ativação de macrófagos tem sido vista de forma mais convincente. Índices fagocitóticos e as concentrações de citocinas derivadas de macrófagos demonstraram ser sensíveis a esta planta em muitos ensaios. A ativação de leucócitos polimorfonucleares e células natural killer também tem sido verificada. As alterações nos números e nas atividades dos leucócitos das células T e B também foram reportadas. Apesar desta evidência celular de imunestimulação, os mecanismos que levam a uma maior resistência a doenças infecciosas não foram descritos adequadamente (BARRETT, 2003).

Estudos *in vitro* mostraram diminuição da motilidade espermática frente a altas concentrações de equinácea (ONDRIZEK et al, 1999), estimulação da atividade proliferativa e angiogênica do sangue, com produção de leucócitos mononucleares, estimulação da atividade de granulócitos e aumento da relação de marcadores dos linfócitos CD4/CD8, mostrando seu efeito na hematopoese (BIAŁAS-CHROMIEC et

al, 2004).

Em relação à toxicidade aguda da equinácea em humanos, foram relatadas reações alérgicas raras com administração parenteral, porém, o mesmo não se observou pela via oral (PARNHAM, 1996). Os sintomas identificados após administração parenteral incluem calafrios, febre e fraqueza muscular. Um gosto desagradável e breve formigamento ou entorpecimento da língua é frequentemente relatado após administração oral (MILLER, 1998), sendo as isobutilamidas encontradas em altas concentrações nas raízes da equinácea as responsáveis por esse efeito dormente (BAUER et al, 1988). A hepatotoxicidade de equinácea é devida à presença de alcaloides pirrolizidínicos na planta (SCHRØDER-AASEN, 2012).

O efeito *in vivo* de extrato de raízes de *E. purpurea* sobre a atividade do citocromo P450 foi avaliado em indivíduos saudáveis com o uso de drogas dependentes de CYP como cafeína (CYP1A2), tolbutamida (CYP2C9), dextrometorfano (CYP2D6) e midazolam (CYP3A hepático e intestinal). Essas drogas foram administradas antes e após um curto período de tratamento com equinácea (400 mg, 4 vezes ao dia por 8 dias). A administração de equinácea reduziu a depuração oral de cafeína e aumentou o clearance sistêmico de midazolam, sendo que a disponibilidade hepática diminuiu e a intestinal aumentou. A equinácea reduziu a depuração oral dos substratos de CYP1A2 e modula seletivamente a atividade catalítica de CYP3A em sítios hepáticos e intestinais. Atenção deve ser dada quando a equinácea é co-administrada com drogas dependentes de CYP3A ou CYP1A2 para a sua eliminação (GORSKI et al, 2004).

A equinácea, por alterar a atividade de CYP, não deve ser utilizada com outros agentes tóxicos ao fígado, pois aumenta os efeitos de outras drogas, como os esteróides, amiodarona, metotrexato, cetoconazol e halotano (LEAK, 2000).

Embora o mecanismo molecular pelo qual a equinácea aumenta a atividade de CYP3A seja desconhecido, é possível que um ou mais componentes de equinácea sejam ligantes para o Receptor *Pregnano X* (PXR) (GORSKI et al, 2004). Portanto, a expressão de outras enzimas e transportadores que são regulados pelo PXR, tais como uridina difosfato-glucuronosiltransferases (MACKENZIE et al, 2003), sulfotransferases (SONODA et al, 2002) e P-glicoproteína (ABCB1) (GEICK et al, 2001), também pode exibir atividade aumentada após administração de equinácea.

Receptores nucleares como o PXR estão relacionados a processos biológicos, e ligantes sintéticos ou naturais possuem a capacidade de ativá-los ou inibi-los. O PXR exerce função crucial na homeostase de metabolização e eliminação de endobióticos e xenobióticos por meio da regulação de enzimas do citocromo P450, especialmente a CYP3A4. A utilização concomitante de fármacos com determinados tipos de fitoterápicos, que apresentem agonismo ou antagonismo com receptores nucleares, pode interferir na terapêutica (SANTOS, 2012).

Contrariamente, em estudos de investigação de toxicidade laboratorial com amostras de sangue, urina e órgãos de camundongos e ratos tratados diariamente com produtos de *E. purpurea* na concentração de 8 g.Kg⁻¹ de peso corporal, tanto via oral

ou intravenosa, não conseguiram causar efeitos adversos mensuráveis em leucócitos, hemácias, plaquetas, enzimas hepáticas, creatinina, ureia, colesterol, triglicerídeos, glicose e no peso dos ratos. Testes de mutagenicidade e de carcinogenicidade em embriões de camundongos também mostraram resultados negativos (MENGS et al, 2000). Além de outros trabalhos demonstrarem efeitos anti-inflamatórios na toxicidade hepática induzida por arsênico (HEIDARI et al, 2012) e também efeitos protetores hepáticos e renais das partes aéreas do extrato de *E. purpurea* sobre lesões induzidas pela dietilnitrosamina em ratos (REZAIE et al, 2013).

Devido ao grande emprego popular desta espécie vegetal e aos poucos estudos de toxicidade desta planta, este trabalho teve como objetivo analisar a toxicidade de *E. purpurea* frente ao microcrustáceo *Artemia salina*.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados no setor de Toxicologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), localizado no Hospital Universitário do Oeste do Paraná (HUOP), integrando o grupo de pesquisa em Toxicologia Celular do Centro de Assistência em Toxicologia (CEATOX) na cidade de Cascavel-Paraná. Para o experimento foi utilizado extrato hidroalcoólico de *E. purpurea* a 50%.

A caracterização fitoquímica do extrato foi realizada através de testes farmacognósticos com desenvolvimento de cor ou precipitação. Foram pesquisadas a presença de saponinas (teste de espuma), esteróides e triterpenóides (reação de Liebermann-Burchard), alcaloides (reação de Dragendorff Mayer), taninos (reação com cloreto férrico), cumarinas (reação com KOH e UV) e flavonóides (reação de Shinoda) (COSTA, 1982).

No ensaio de citotoxicidade com *A. salina*, empregaram-se 10 exemplares da fase larval de náuplio criado em laboratório em solução de NaCl 30 g.L⁻¹, pH 8,5, com aeração constante e mantidas em temperatura de 28 ± 2° C (MEYER et al, 1982). O experimento foi realizado em triplicata, utilizando o extrato de equinácea nas concentrações de 500 mg.mL⁻¹; 50 mg.mL⁻¹; 25 mg.mL⁻¹; 5 mg.mL⁻¹; 2,5 mg.mL⁻¹; 0,5 mg.mL⁻¹; 0,25 mg.mL⁻¹ e 0,0625 mg.mL⁻¹ diluídos em 5 mL de solução salina.

Os náuplios mortos foram contados após 24 horas de exposição ao extrato. Além dos tubos contendo as diferentes concentrações do extrato, também foram utilizados tubos controle com solução salina (controle negativo) e hidróxido de sódio a 1% (controle positivo). Os resultados foram expressos como percentagem de mortalidade. O teste foi considerado efetivo quando a mortalidade do controle negativo não ultrapassou 50% e o controle positivo apresentou valores maiores que 80%.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados dos testes farmacognósticos realizados com o extrato de equinácea, mostrando a presença de algumas classes de metabólitos secundários.

Testes	Resultado
Alcaloides (Dragendorff Mayer)	-
Cumarinas (KOH/UV)	-
Esteróides e Triterpenóides (Liebermann-Burchard)	-
Flavonóides (Shinoda)	-
Saponinas (Espuma)	+
Taninos (Cloreto férrico)	+

Tabela 1. Testes farmacognósticos do extrato hidroalcoólico de *E. purpurea* a 50%.

(-): ausência e (+): presença

O extrato de equinácea apresentou positividade para saponinas e taninos, diferentemente de outros estudos que mostraram a presença de flavonóides, alcaloides e esteróis nesta planta (CHÁVEZ MORALES, 2014).

O fracionamento e isolamento de compostos naturais de classes distintas, tais como flavonóides, triterpenos, esteróis, compostos aromáticos e outros podem ser guiados por ensaio de letalidade com microcrustáceo, pois é um método útil na avaliação de bioatividade, poupando a necessidade de ensaios posteriores *in vitro* e *in vivo* mais dispendiosos (CEPLEANU, 1993).

A Tabela 2 apresenta as médias percentuais da mortalidade das larvas de *A. salina* expostas a diferentes concentrações do extrato de equinácea.

Concentrações (mg.mL ⁻¹)	Mortalidade (%)
500	100,00 ± 0,00 (3)
50	100,00 ± 0,00 (3)
25	100,00 ± 0,00 (3)
5	100,00 ± 0,00 (3)
2,5	86,67 ± 13,33 (3)
0,50	100,00 ± 0,00 (3)
0,25	60,00 ± 10,00 (3)
0,0625	50,00 ± 10,00 (3)
C (-)	30,00 ± 15,28 (3)
C (+)	96,67 ± 3,33 (3)

Tabela 2. Percentuais de mortalidade de *A. salina* frente às diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico de *E. purpurea* a 50%.

C (-): Controle negativo; C (+): Controle positivo. Os números entre parênteses representam o número de triplicatas (n). Resultados expressos em média ± SEM de n triplicatas.

Os dados da Tabela 2 mostraram que os tubos contendo solução salina, utilizados como controles negativos, tiveram baixa mortalidade para os microcrustáceos, indicando que as larvas sobreviveram nas condições experimentais do teste, durante o período do bioensaio. Verificou-se que para o extrato de equinácea ainda houve mortalidade de 100% na concentração de 0,5 mg.mL⁻¹.

A Figura 2 foi construída com dados da Tabela 2. Este gráfico permitiu encontrar os valores da percentagem de mortalidade das larvas de *A. salina* em relação às concentrações do extrato.

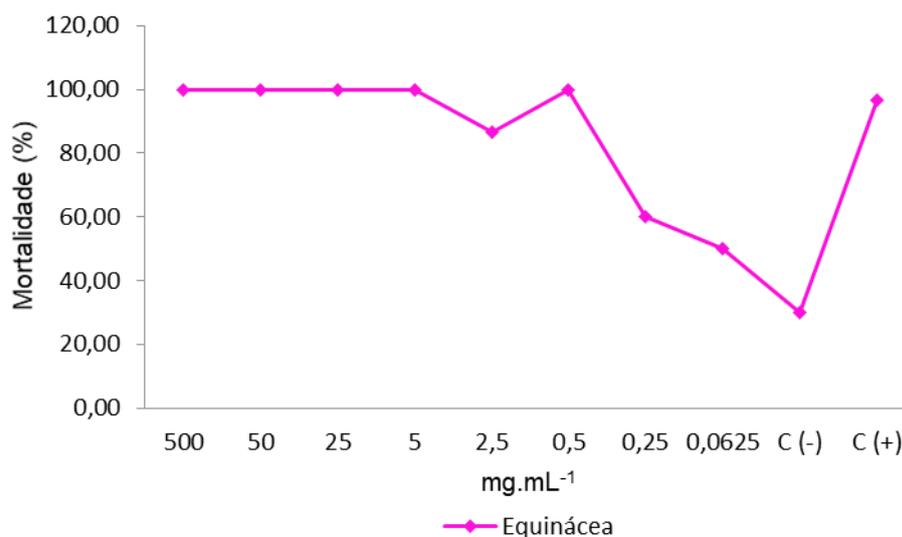


Figura 2. Percentagem de mortalidade de *A. salina* frente ao extrato hidroalcoólico de *E. purpurea* a 50%.

Na Figura 2 verificamos que houve mortalidade dos náuplios nas concentrações de 0,25 mg.mL⁻¹ (60%) e 0,0625 mg.mL⁻¹ (50%). A concentração letal de extrato capaz de eliminar 50% dos náuplios é chamada de CL₅₀ e foi encontrada na concentração de 0,0625 mg.mL⁻¹ para o extrato de equinácea. Para ser considerado um extrato tóxico a CL₅₀ de extratos de plantas sobre a *A. salina* necessita ter concentrações abaixo de 1 mg.mL⁻¹ e haver mortalidade dos microcrustáceos superior a 50% (MEYER et al, 1982).

Assim, o ensaio de toxicidade à *A. salina* mostrou sensibilidade do microcrustáceo ao extrato de equinácea. A presença de saponinas e taninos, cujas classes foram indicadas pelos testes farmacognósticos ou outras substâncias presentes na planta, podem ser responsáveis pela atividade biológica evidenciada neste ensaio.

4 | CONCLUSÃO

O bioensaio mostrou toxicidade do extrato hidroalcoólico de *E. purpurea* frente à *A. salina*. Como há atividade *in vitro*, recomendam-se estudos para verificar a toxicidade *in vivo* desta espécie vegetal.

REFERÊNCIAS

- BARRETT, B. Medicinal properties of Echinacea: a critical review. **Phytomedicine**, v. 10, n. 1, p. 66-86, 2003.
- BAUER, R.; REMIGER, P.; WAGNER, H. New Alkamides from Echinacea angustifolia and E. purpurea Roots. **Planta medica**, v. 54, n. 06, p. 563-564, 1988.
- BIAŁAS-CHROMIEC, B. et al. The in vivo effect of Echinacea purpurea succus on various functions of human blood leukocytes. **Central European Journal of Immunology**, v. 28, n. 3, p. 126-130, 2004.
- CEPLEANU, F. **Validation and application of three bench-top bioassays for screening of crude plant extracts and subsequent activity-guided isolation**. Tese de Doutorado. Repro EPFL. 1993.
- CHÁVEZ MORALES, Y. **Evaluación farmacológica de extractos de raíz y de callos originados de distintos explantes de Echinacea purpurea (L.) Moench**. 2014.
- COSTA, A. F. **“Farmacognosia”**, Ed.: Fundação Colouste Gulbenkian, v. 3, 3 ed., Lisboa, 1982.
- GEICK, A.; EICHELBAUM, M.; BURK, O. Nuclear receptor response elements mediate induction of intestinal MDR1 by rifampin. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 18, p. 14581-14587, 2001.
- GORSKI, J. C. et al. The effect of echinacea (Echinacea purpurea root) on cytochrome P450 activity in vivo. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 75, n. 1, p. 89-100, 2004.
- HEIDARI, M. et al. Histopathologic effects of Echinacea purpurea extract on sodium arsenite-induced hepatic disorders. **Comparative clinical pathology**, v. 21, n. 6, p. 1629-1632, 2012.
- KURKIN, V. A. et al. Flavonoids from Echinacea purpurea. **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**, v. 37, n. 7, p. 905-906, 2011.
- LEAK, J. A. Perioperative considerations in the management of the patient taking herbal medicines. **Current Opinion in Anesthesiology**, v. 13, n. 3, p. 321-325, 2000.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2002.
- MACKENZIE, P. I. et al. Regulation of UDP glucuronosyltransferase genes. **Current drug metabolism**, v. 4, n. 3, p. 249-257, 2003.
- MENGS, U. et al. Toxicity studies with Echinacin. In: **Third International Conference on Phytomedicine, Munich, Germany**. p. 11-13, 2000.
- MEYER, B. N. et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta medica**, v. 45, n. 05, p. 31-34, 1982.
- MILLER, L. G. Herbal medicinals: selected clinical considerations focusing on known or potential drug-herb interactions. **Archives of internal medicine**, v. 158, n. 20, p. 2200-2211, 1998.

ONDRIZEK, R. R. et al. Inhibition of human sperm motility by specific herbs used in alternative medicine. **Journal of assisted reproduction and genetics**, v. 16, n. 2, p. 87-91, 1999.

PARNHAM, M. J. Benefit-risk assessment of the squeezed sap of the purple coneflower (*Echinacea purpurea*) for long-term oral immunostimulation. **Phytomedicine**, v. 3, n. 1, p. 95-102, 1996.

REZAIE, A. et al. Effects of *Echinacea purpurea* on hepatic and renal toxicity induced by diethylnitrosamine in rats. **Jundishapur journal of natural pharmaceutical products**, v. 8, n. 2, p. 60, 2013.

SANTOS, N. C. **Avaliação da ação agonista no receptor de pregnano X (PXR) de drogas vegetais constantes na RDC 10/10 da Anvisa**. 2012.

SCHRØDER-AASEN, T. **Effects of Purple Coneflower (*Echinacea purpurea*) on CYP3A4 Metabolism and P-glycoprotein Mediated Transport in Vitro**. 2012.

SONODA, J. et al. Regulation of a xenobiotic sulfonation cascade by nuclear pregnane X receptor (PXR). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 21, p. 13801-13806, 2002.

CARACTERIZAÇÃO DE INFECÇÃO PULMONAR EXPERIMENTAL POR *PAECILOMYCES VARIOTII* EM ANIMAIS NORMAIS E IMUNOCOMPROMETIDOS

Isaac Loreiro Cabral

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas
Cascavel – Paraná

Izabela Virgínia Staffen

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas
Cascavel – Paraná

José Henrique Fermino Ferreira dos Santos

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Cascavel – Paraná

Thiago Oliveira dos Santos

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas
Cascavel – Paraná

Eduardo Alexandre Loth

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Cascavel – Paraná

Rafael Andrade Menolli

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas
Cascavel – Paraná

RESUMO: O fungo *Paecilomyces variotii* é um fungo ambiental que é encontrado ubiquamente e podem entrar em contato constantemente com trabalhadores de vários setores. São poucos os modelos existentes para caracterizar infecções

fúngicas aéreas e este trabalho buscou caracterizar o potencial infeccioso dos conídios do fungo em modelo animal. Camundongos C57BL/6 foram imunossuprimidos com ciclofosfamida (250 mg/kg) em duas doses, pré e pós-infecção. Animais imunossuprimidos e normais foram infectados por nebulização dos conídios fúngicos em uma câmara fechada, sendo mantidos lá por 2 horas. Após o período de infecção, foram retirados os pulmões de um animal e colocados em cultura, para avaliar a viabilidade dos fungos. Após dez dias da infecção, os demais animais foram sacrificados e realizados cortes histológicos dos pulmões para visualização da presença de estruturas fúngicas, além de coletado sangue dos mesmos para verificar presença de anticorpos. Os resultados mostraram que o fungo *P. variotii* se mostrou infectante para os animais, com os pulmões dos animais normais exibindo estruturas fúngicas, sendo essa infecção mais alastrada no animal imunossuprimido. Além disso, quando os soros dos animais foram testados contra polissacarídeos de fungos, foi evidenciada a produção de IgG no animal normal.

PALAVRAS-CHAVE: Infecção fúngica; fungos anemófilos; imunossupressão; modelo experimental.

1 | INTRODUÇÃO

Existem poucos modelos experimentais para estudo de infecções fúngicas em indivíduos imunocompetentes ou sadios para fungos anemófilos e estabelecer novas maneiras para entender essa relação é importante, uma vez que uma série de profissões são expostas rotineiramente a estruturas dos fungos, com por exemplo, o trabalhador de aviário. Ele tem uma rotina de tarefas variadas em que entra em contato com poeiras (aerossóis) contendo agentes microbianos como bactérias e fungos. A existência dessa poeira em suspensão deve-se principalmente à viragem da cama do aviário, atividade que, dependendo da fase de crescimento dos animais, é realizada até diariamente. É relatado neste tipo de ambiente produtivo a presença de fungos patogênicos ou potencialmente patogênicos pertencentes aos gêneros *Penicillium*, *Curvularia*, *Paecilomyces* e *Aspergillus* (RODRIGUES MARCONDES et al., 2008).

O fungo *Paecilomyces variotii* é um fungo filamentosso saprofítico, hialino e assexuado que é encontrado no solo, ar e vegetação em decomposição ao redor do mundo (TAN et al., 1992), sendo conhecido por causar infecções oportunistas em pacientes imunocomprometidos (WALSH et al., 2004), e vários surtos foram documentados como causados por *P. variotii* (KUNSTÝR et al., 1997). O pulmão é o órgão mais comumente afetado e a infecção fúngica pulmonar é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes imunocomprometidos (LOW; ROTSTEIN, 2011). A doença ocorre quando há um desequilíbrio na interação hospedeiro-patógeno, com os mecanismos de proteção do hospedeiro sendo vencidos pela virulência do patógeno.

O objetivo deste trabalho deste é apresentar um modelo experimental de infecção fúngica pelas vias aéreas de camundongos.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Fungo: uma cepa de *P. variotii* (número IOC-4185) foi obtida da Coleção de Culturas de Fungos Filamentosos da Fundação Oswaldo Cruz, realizado cultivo em Ágar Batata Dextrose (BDA) e estocada à 8°C.

Infecção e Imunossupressão dos animais: camundongos da linhagem C57BL/6 foram utilizados para a infecção com *P. variotii*. Os animais foram divididos em quatro grupos (n=5 por grupo), sendo no primeiro grupo realizada imunossupressão e a infecção pelo fungo. Já o segundo grupo foi apenas infectado, enquanto o terceiro grupo foi apenas imunossuprimido. Um quarto grupo foi utilizado como controle, não sendo imunossuprimido nem exposto ao fungo. A imunossupressão foi realizada aplicando-se ciclofosfamida (20 mg/mL) na dose de 250 mg/kg de animal, em duas doses, três dias antes e um dia após a infecção, para manutenção do estado imunossuprimido, conforme VALLOR et al., 2008. A imunossupressão foi acompanhada pela contagem

dos leucócitos a partir da coleta de sangue da cauda do animal, em três momentos: antes de iniciar a imunossupressão, no dia da infecção e três dias após a segunda dose do medicamento. Para a infecção fúngica foi utilizado método adaptado daquele relatado por SHEPPARD et al., 2004, sendo então todos os animais acondicionados em uma câmara plástica fechada e transparente na qual uma mangueira saída de um nebulizador permite a entrada do vapor contendo os conídios fúngicos (Figura 1). Os animais permaneceram ali durante duas horas, sendo que na primeira hora receberam o inóculo via nebulização na dose aproximada de 10^9 conídios totais. Passadas duas horas, um animal por grupo foi eutanasiado para a extração do pulmão, sendo estes submetidos à cultura em BDA, com um pulmão de cada animal sendo macerado e adicionado à salina estéril (1mL), com esta mistura sendo plaqueada em BDA e deixada em estufa bacteriológica a 28°C por 72h. Os demais animais de cada grupo foram eutanasiados após 10 dias da infecção e os pulmões retirados e submetidos e realizados cortes histológicos dos mesmos e os cortes histológicos foram corados pelas técnicas de H&E e prata-metenamina (PM). Os resultados foram analisados qualitativamente quanto ao crescimento do fungo, presença de estruturas fúngicas e infiltrado celular no pulmão. Todos os procedimentos com animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Animais da Unioeste (Certificado número 10/16 CEUA).

Ensaio imunoenzimático: com o intuito de verificar a resposta dos animais para a infecção pelo fungo *P. variotii*, o sangue dos animais foi coletado por punção cardíaca ao final dos dez dias de infecção e submetido a um ensaio imunoenzimático (ELISA) tendo como objetivo a detecção de anticorpos antipolissacarídeo fúngico. O polissacarídeo utilizado como antígeno para o ensaio foi obtido conforme OSAKU et al., 2017, no qual o fungo foi submetido a cultivo submerso em meio de cultura otimizado para seu crescimento. Após 5 dias, o meio foi filtrado e ao sobrenadante foi adicionado etanol na proporção 3:1 para precipitação do polissacarídeo. O etanol foi evaporado por rotaevaporação e o líquido restante foi liofilizado. O polissacarídeo resultante foi identificado como β -(1>6) -Glucana. O ELISA utilizado foi um ensaio indireto para detecção de Imunoglobulinas G (IgG), utilizando-se de um conjugado anti-IgG marcado com peroxidase, sendo determinada a quantidade de anticorpo pela leitura colorimétrica em leitora de microplacas. A padronização do ensaio e a confecção de um controle positivo para o teste foram feitos em trabalho anterior (MENOLLI et al., 2014).



Figura 1 – Esquema experimental da infecção dos animais com *P. variotii*.

Avaliação estatística: os dados das contagens de leucócitos e das leituras espectrofotométricas do ELISA foram analisados estatisticamente por comparação de médias por meio do teste de ANOVA com pós-teste de Tukey, ao nível de 95% de significância, sendo significativas resultados com $p < 0,05$.

3 | RESULTADOS

Imunossupressão: a figura 2 mostra as contagens de leucócitos nos dias -4, 0 e 4 pós-infecção, evidenciando o sucesso no procedimento de imunossupressão ao qual os animais foram submetidos utilizando-se o medicamento ciclofosfamida. Não se verifica diferença antes do uso do medicamento e é alcançada diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos imunossuprimidos e normais após 4 e 8 dias da aplicação da ciclofosfamida.

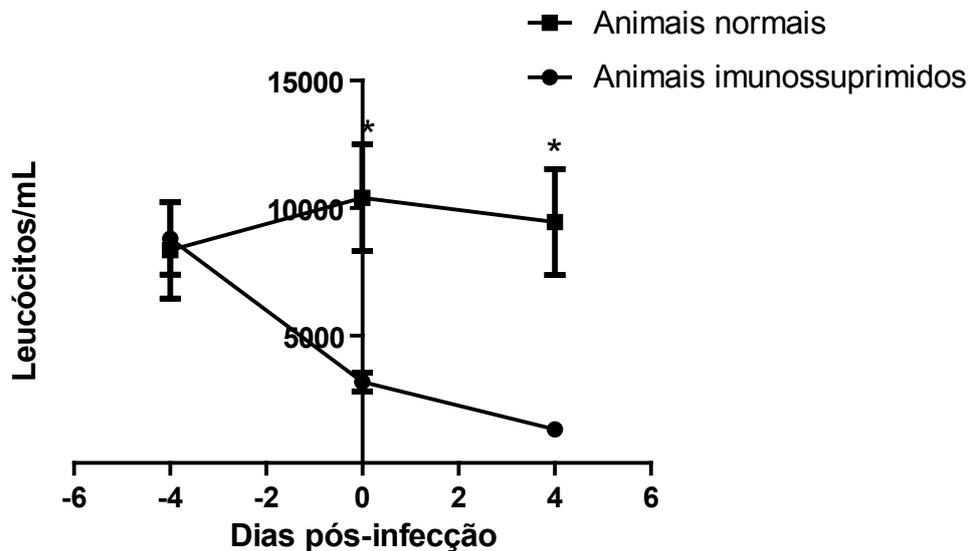


Figura 2 – Número de leucócitos/mL de camundongos normais ou imunossuprimidos, submetidos à infecção por *Paecilomyces variotii*. * representa diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos normal e imunossuprimido.

Infecção pelo fungo *P. variotii*: o modelo empregado neste trabalho para realizar uma infecção pelas vias aéreas de camundongos utilizando nebulização de conídios fúngicos se mostrou viável, uma vez que houve crescimento (Figura 3) do fungo em cultura após 72h do cultivo dos pulmões dos animais que havia inalados recentemente a carga microbiana. O crescimento de *P. variotii* aconteceu nos pulmões submetidos ao cultivo tanto do animal imunossuprimido quanto do normal.

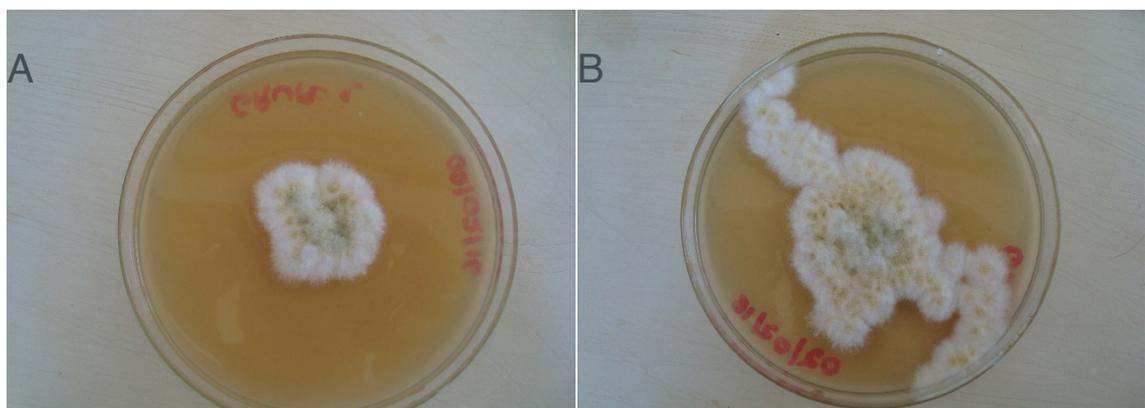


Figura 3 – Cultivo em Ágar Batata Dextrose (28°C/72h) dos pulmões retirados de animais recém-expostos ao fungo *Paecilomyces variotii* durante duas horas em ambiente fechado (10^9 conídios). A – Pulmão de animal imunossuprimido. B – Pulmão de animal normal.

Após dez dias do inóculo dos conídios nas vias aéreas dos animais, os mesmos foram sacrificados e tiveram seus pulmões retirados para produção de lâminas para avaliação histológica. As mesmas mostram sob a coloração de PM (Figura 4) que houve sucesso na infecção fúngica, com estruturas do fungo instaladas no tecido pulmonar. Um crescimento mais acentuado nos pulmões dos animais imunossuprimidos/infectados é visualizado (Fig. 4A), porém sem diferença para os animais normais/infectados (Fig. 4B), os quais também mostram a presença de *P. variotii* passados os dez dias pós-

infecção. Pulmões de animais dos grupos imunossuprimido/não infectado (Fig. 4C) e normal/não infectado (Fig. 4D) mostram não haver estruturas fúngicas nos mesmos.

Já a coloração por H&E evidencia um parênquima mais espesso/denso com alvéolos menores e um aparecimento de infiltrado celular no interstício pulmonar dos animais infectados (Figura 5A e B) comparado aos animais não infectados (Figura 5C e D), com diferença significativa entre os mesmos. Já entre os animais infectados (imunossuprimidos ou normais), apesar de haver maior celularidade no tecido do animal normal, não é possível verificar diferenças entre estes grupos.

Produção de anticorpos antipolissacarídeo de *P. variotii*: com os soros obtidos ao final dos dez dias de infecção, realizou-se um ELISA indireto tendo como antígeno um polissacarídeo produzido *in vitro* por *P. variotii*. Como mostra a Figura 6, os soros dos animais do grupo 2 (infectado/normal) reagiram mais fortemente ao antígeno do que os demais grupos, mostrando uma absorbância muito próxima ao controle positivo. O grupo 1, que também foi infectado, porém estava imunossuprimido, mostrou reatividade comparável ao controle negativo e aos grupos não infectados (grupos 3 e 4).

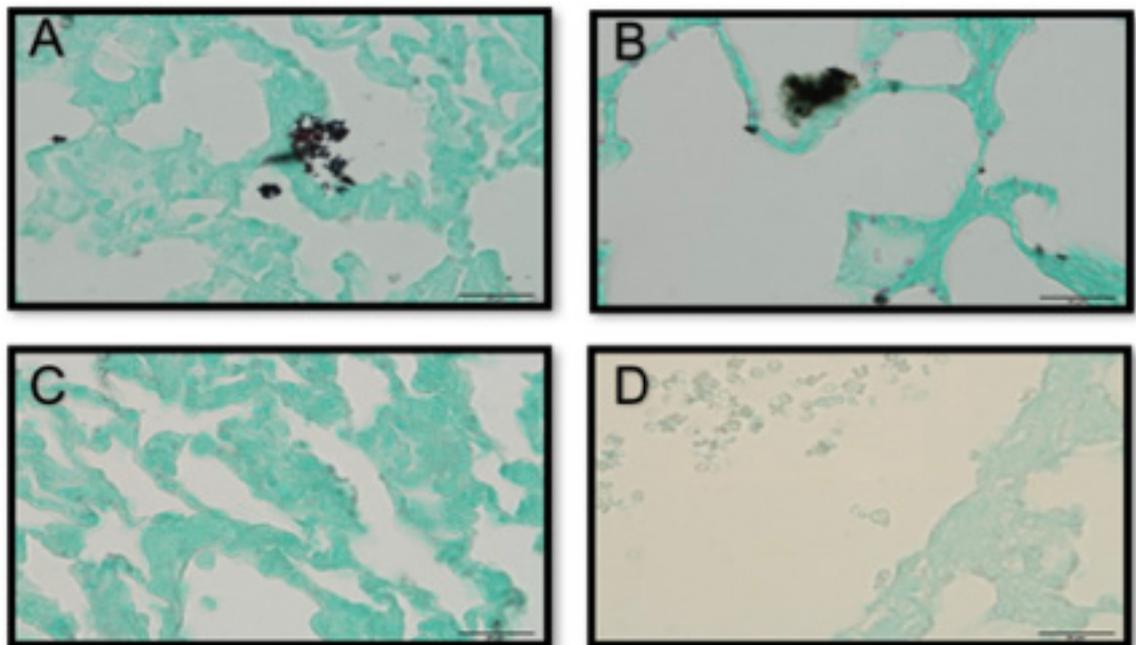


Figura 4 – Fotomicrografia (aumento 400x) de lâminas histológicas de pulmões de camundongos corados pela técnica de prata-metenamina: **A** – grupo infectado e imunossuprimido; **B** – grupo infectado e normal; **C** – grupo não infectado e imunossuprimido; **D** – grupo não infectado e normal.

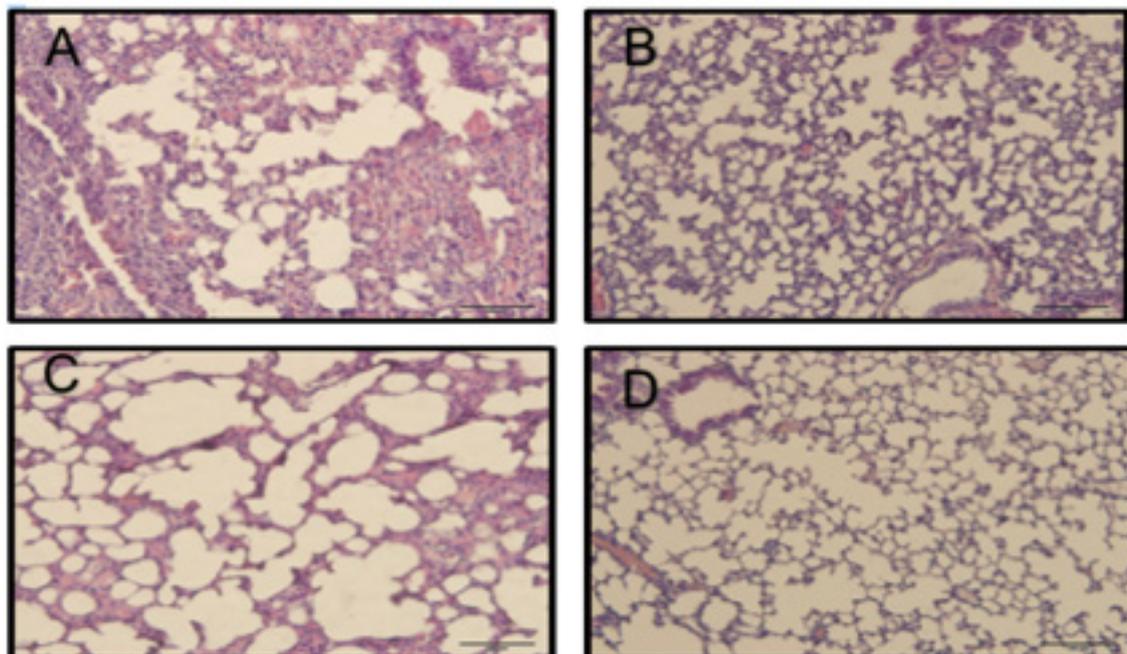


Figura 5 – Fotomicrografia (aumento 400x) de lâminas histológicas de pulmões de camundongos corados pela técnica de H&E: **A** – grupo infectado e imunossuprimido; **B** – grupo infectado e normal; **C** – grupo não infectado e imunossuprimido; **D** – grupo não infectado e normal.

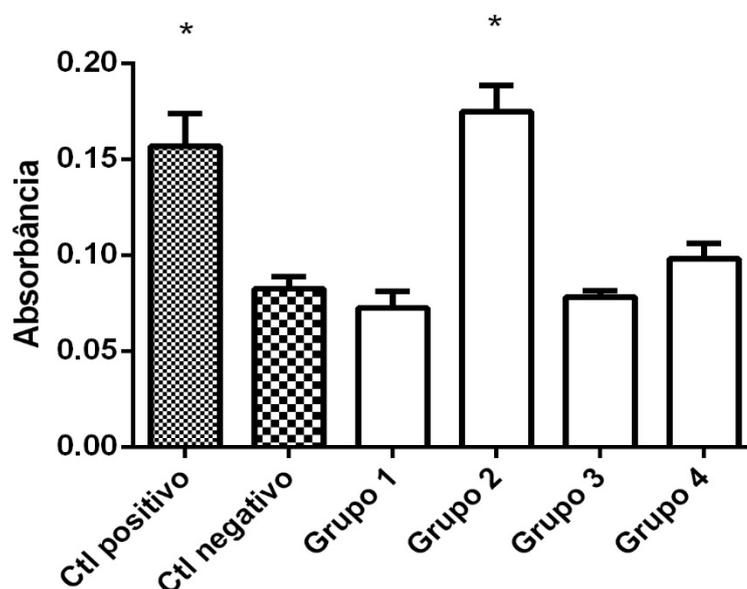


Figura 6 – Reação imunoenzimática indireta realizada com soros de camundongos contra antígeno polissacarídico produzido *in vitro* por *Paecilomyces variotii*. Grupo 1 – animais infectados e imunossuprimidos; Grupo 2 – animais infectados e normais; Grupo 3 – animais não infectados e imunossuprimidos; Grupo 4 – animais não infectados e normais. * representa diferença significativa ($p < 0,05$) dos grupos controle positivo e 2 frente aos demais grupos.

4 | DISCUSSÃO

Uma baixa taxa de incidência e virulência é observada nas infecções por *P. variotii*, e isso é devido a aspectos do hospedeiro, porém em indivíduos imunocomprometidos,

essa infecção pode ter sérias consequências, como hialohifomicoses (HOUBRAKEN et al., 2010), sinusite (GUCALP et al., 1996), endocardite (HALDANE et al., 1974) ou pneumonia (DHARMASENA; DAVIES; CATOVSKY, 1985). Isso preocupa, uma vez que trabalhadores de aviários, que estejam com o sistema imune debilitado e entram cotidianamente em contato com conídios destes fungos, podem desenvolver patologias severas.

Apesar dos modelos de infecções fúngicas aéreas existentes focarem em patógenos oportunistas mais habituais como o *Aspergillus fumigatus* (SHEPPARD et al., 2004), é importante a aplicação destas técnicas em microrganismos menos conhecidos, porém capazes de causar infecções em imunocomprometidos, como é o *P. variotii*. A aplicação de conídios fúngicos nebulizados em um ambiente fechado, como utilizado aqui, foi capaz de fazer tais estruturas chegarem e se instalarem nos pulmões dos animais, como demonstrado nos resultados. Isso, porém, não garante que a presença do fungo seria capaz de levar a uma pneumonia ou a morte do camundongo, como demonstrado por *A. fumigatus*. Isso é reforçado pelo encontro de estruturas de *P. variotii* em pulmões de animais de laboratório como um contaminante (KUNSTÝR et al., 1997), com poucos danos a eles, exceção a casos de dermatite ocorridos.

A imunossupressão causada pela ciclofosfamida é bastante eficaz e induz rapidamente um estado com baixíssimo número de leucócitos sanguíneos (HUNNINGHAKE; FAUCI, 1976)i.p., principalmente de neutrófilos, como demonstrado nos grupos nos quais foram administrados o medicamento. O uso de ciclofosfamida é uma das causas de infecções oportunistas pelos fungos (WALSH et al., 2004) e a carga fúngica parece ser bastante importante para que a presença do fungo passe a ser uma infecção em modelos imunossuprimidos (DIXON; POLAK; WALSH, 1989).

O modelo desenvolvido aqui se mostrou bastante prático e barato, de forma a investigar com facilidade a capacidade de fungos filamentosos ubíquos como é o caso do *P. variotii*, em infectar as vias aéreas de indivíduos expostos. A carga fúngica utilizada foi bastante próxima daquela observada na exposição humana (SHEPPARD et al., 2006) porém, devido à baixa virulência do fungo aqui utilizado, nenhuma morte foi observada no período analisado. Este modelo também permite uma homogeneidade da carga fúngica nos pulmões dos animais, diferente de outros modelos, como por exemplo, a instilação nasal ou infecção venosa (GRAYBILL et al., 1998; KIRKPATRICK et al., 2000)

Alterações nos tecidos pulmonares dos animais infectados verificadas nos cortes histológicos corados por H&E são semelhantes aquelas observadas por KUNSTÝR et al., 1997 com leve edema e infiltrado perivascular. Isso difere em parte dos achados na aspergilose, na qual se encontra um infiltrado proeminente, porém quando analisadas sob a coloração específica para fungos (PM), são bastante semelhantes, sendo necessário nestes casos a cultura para diferenciar infecções por ambas (SANGOI et al., 2009).

O contato com fungos anemófilos pelas vias aéreas é bastante comum em algumas profissões como lenhadores ou trabalhadores de aviários (EDUARD; SANDVEN; LEVY, 1992; RODRIGUES MARCONDES et al., 2008), porém raros são os relatos de infecções causadas por esses fungos, uma vez que é necessária um estado imunossuprimido bastante acentuado do paciente para o aparecimento de manifestações (LEE et al., 2002). Contudo, o sistema imune dos indivíduos expostos é estimulado pelos conídios fúngicos, sendo possível identificar a presença de anticorpos (RYDJORD et al., 2007), como os encontrados neste trabalho, da classe IgG, os quais foram identificados somente nos animais imunocompetentes.

REFERÊNCIAS

DHARMASENA, F. M. C.; DAVIES, G. S. R.; CATOVSKY, D. *Paecilomyces variotii* pneumonia complicating hairy cell leukaemia. **British Medical Journal**, v. 290, n. March, p. 967–968, 1985.

DIXON, D. M.; POLAK, A.; WALSH, T. J. Fungus dose-dependent primary pulmonary aspergillosis in immunosuppressed mice. **Infection and immunity**, v. 57, n. 5, p. 1452–6, 1989.

EDUARD, W.; SANDVEN, P.; LEVY, F. Relationships between exposure to spores from *Rhizopus microsporus* and *Paecilomyces variotii* and serum IgG antibodies in wood trimmers. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 97, n. 4, p. 274–282, 1992.

GRAYBILL, J. R. et al. SCH56592 treatment of murine invasive aspergillosis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 42, n. 4, p. 539–542, 1998.

GUCALP, R. et al. *Paecilomyces* sinusitis in an immunocompromised adult patient: case report and review. **Clinical Infectious Diseases**, v. 23, n. 2, p. 391–3, 1996.

HALDANE, E. V. et al. Prosthetic valvular endocarditis due to the fungus *Paecilomyces*. **Canadian Medical Association Journal**, v. 111, n. 9, p. 963–968, 1974.

HOUBRAKEN, J. et al. Identification of *Paecilomyces variotii* in clinical samples and settings. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 8, p. 2754–61, 2010.

HUNNINGHAKE, G. W.; FAUCI, A. S. Quantitative and qualitative effects of cyclophosphamide administration on circulating polymorphonuclear leucocytes. **Immunology**, v. 31, n. 1, p. 139–144, 1976.

KIRKPATRICK, W. R. et al. Efficacy of SCH56592 in a rabbit model of invasive aspergillosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 44, n. 3, p. 780–782, 2000.

KUNSTÝR, I. et al. Fungus *Paecilomyces*: a new agent in laboratory animals. **Laboratory animals**, v. 31, n. 1, p. 45–51, 1997.

LEE, J. et al. Delayed sternotomy wound infection due to *Paecilomyces variotii* in a lung transplant recipient. **The Journal of Heart and Lung Transplantation**, v. 21, n. 10, p. 1131–4, 2002.

LOW, C.-Y.; ROTSTEIN, C. Emerging fungal infections in immunocompromised patients. **F1000 Medicine Reports**, v. 3, n. July, p. 14, 2011.

MENOLLI, R. A. et al. Production, detection and cross-reactivity of anti-polysaccharide antibodies from environmental fungi. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 5, n. September, p. 815–822, 2014.

OSAKU, E. F. et al. β -(1→6)-d-glucan secreted during the optimised production of exopolysaccharides by *Paecilomyces variotii* has immunostimulatory activity. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, 2017.

RODRIGUES MARCONDES, N. et al. New feather-degrading filamentous fungi. **Microbial Ecology**, v. 56, n. 1, p. 13–7, 2008.

RYDJORD, B. et al. Antibody response to long-term and high-dose mould-exposed sawmill workers. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 66, n. 6, p. 711–718, 2007.

SANGOI, A. R. et al. Challenges and pitfalls of morphologic identification of fungal infections in histologic and cytologic specimens: A ten-year retrospective review at a single institution. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 131, n. 3, p. 364–375, 2009.

SHEPPARD, D. C. et al. Novel inhalational murine model of invasive pulmonary aspergillosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 5, p. 1908–1911, 2004.

SHEPPARD, D. C. et al. Standardization of an experimental murine model of invasive pulmonary aspergillosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, n. 10, p. 3501–3, 2006.

TAN, T. Q. et al. *Paecilomyces lilacinus* catheter-related fungemia in an immunocompromised pediatric patient. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 9, p. 2479–2483, 1992.

VALLOR, A. C. et al. Assessment of *Aspergillus fumigatus* burden in pulmonary tissue of guinea pigs by quantitative PCR, galactomannan enzyme immunoassay, and quantitative culture. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 7, p. 2593–8, 2008.

WALSH, T. J. et al. Infections due to emerging and uncommon medically important fungal pathogens. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 10, n. SUPPL. 1, p. 48–66, 2004.

LECTINAS VEGETAIS COMO FERRAMENTAS TERAPÊUTICAS: UMA REVISÃO

Juliete Lira de Souza Lima

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal,
Recife – Pernambuco

Isabella Coimbra Vila Nova

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal,
Recife – Pernambuco

Welton Aaron de Almeida

Universidade Federal de Pernambuco, Centro de
Biotecnologias, Departamento de Bioquímica, Recife
– Pernambuco

Jeine Emanuele Santos da Silva

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal,
Recife – Pernambuco

Emmanuel Viana Pontual

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal,
Recife – Pernambuco

Joaquim Evêncio Neto

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal,
Recife – Pernambuco

RESUMO: As lectinas são proteínas que possuem domínios capazes de reconhecer moléculas glicídicas, às quais se ligam de maneira reversível e específica. Essas proteínas estão envolvidas nos mecanismos de defesa dos organismos multicelulares,

desempenhando um importante papel na imunidade inata, geralmente por reconhecer epítomos de glicano semelhantes que ocorrem na superfície celular de patógenos. Nesse sentido, as propriedades farmacológicas das lectinas têm sido amplamente exploradas, incluindo seu potencial como agentes antibacterianos, antifúngicos, antivirais, antitumorais e cicatrizantes. A atividade antimicrobiana das lectinas tem sido associada à interação com componentes da parede celular de bactérias (ácido teicóico e teicurônico, peptidoglicanos e lipopolissacarídeos) ou de fungos (N-acetilglicosamina) e à formação de poros, alterando a permeabilidade celular. O efeito de lectinas sobre os vírus envolve a ligação com oligossacarídeos que contêm resíduos de manose, presentes nas superfícies de glicoproteínas do envelope viral. Adicionalmente, a atividade antitumoral das lectinas está associada à combinação entre a alteração no padrão de glicosilação das células tumorais comparado às células saudáveis, e a especificidade da interação lectina-carboidrato. Com relação ao efeito cicatrizante, este pode estar vinculado à capacidade das lectinas em induzir a produção de proteases por células do sistema imunológico, fundamentais para o processo de reparação tecidual. Neste contexto, esta revisão apresenta uma discussão sobre a utilização das lectinas como ferramentas

terapêuticas.

PALAVRAS-CHAVE: Lectinas, atividade antimicrobiana, atividade antiviral, atividade antitumoral, atividade cicatrizante.

ABSTRACT: Lectins are proteins that contain domains capable of recognizing glycan molecules, to which they bind in a reversible and specific manner. These proteins are involved in the defense mechanisms of multicellular organisms, playing an important role in innate immunity, generally by recognizing similar glycan epitopes that occur on the pathogens cell surface. In this sense, the pharmacological properties of lectins have been extensively explored, including their potential as antibacterial, antifungal, antiviral, antitumor and cicatrizant agents. The antimicrobial activity of lectins has been associated with the interaction with cell wall components from bacteria (teichoic and teicuronic acid, peptidoglycans and lipopolysaccharides) or fungi (N-acetylglucosamine) and pore formation, altering cell permeability. The effect of lectins on viruses involves the binding with oligosaccharides containing mannose residues on the surfaces of glycoproteins from viral envelope. In addition, the antitumor activity of lectins is associated with the combination between the alteration in the glycosylation pattern of tumor cells regarding the healthy cells, and the specificity of the lectin-carbohydrate interaction. On the healing effect, this may be linked to the ability of lectins to induce the production of proteases by cells of the immune system, which are fundamental for the tissue repair process. In this context, this review presents a discussion on the use of lectins as therapeutic tools.

KEY WORDS: Lectins, antimicrobial activity, antiviral activity, antitumor activity, healing activity

1 | INTRODUÇÃO

É bem conhecido que os vegetais produzem uma grande variedade de compostos, incluindo proteínas (lectinas) que são capazes de reconhecer carboidratos e/ou glicoconjugados, as quais têm sido reportadas como potenciais agentes inseticidas (AGRA-NETO et al., 2014), antimicrobianos (MOURA et al., 2015), antitumorais (ALBUQUERQUE et al., 2014), anti-inflamatórios (LACERDA et al., 2015) e cicatrizantes (MELO et al., 2011; BRUSTEIN et al., 2012), dentre outras atividades biológicas.

As lectinas fazem parte de um grupo de proteínas estruturalmente heterogêneo, capaz de reconhecer sítios específicos em moléculas glicídicas e ligar-se de maneira reversível. Inicialmente identificadas como proteínas tóxicas, as lectinas tornaram-se ferramentas indispensáveis em diagnósticos de doenças, de tipagem sanguínea e de identificação de cepas de microrganismos. Elas têm dado suporte a estudos moleculares, estruturais, genéticos e de fisiologia vegetal entre outros, através do detalhamento das interações proteína-proteína e proteína-carboidrato (POVINELI; FINARDI FILHO, 2002).

O caráter promissor das plantas como material de partida para o isolamento de compostos com potencial aplicação farmacológica e a variedade de atividades biológicas que têm sido descritas para as lectinas motivaram esta revisão. Aqui será apresentada uma discussão sobre utilização dessa classe de proteínas vegetais como ferramentas terapêuticas. A Tabela 1 apresenta algumas lectinas e suas aplicações, as quais serão discutidas ao longo dessa revisão.

Lectina	Fonte	Efeito	Referências
ConA	Sementes de <i>Canavalia ensiformis</i>	Atividades antitumoral, antiangiogênica, imunomoduladora, antifúngica e cicatrizante.	SUMNER; HOWELL, 1936; KULKARNI; MCCULLOCH, 1995; CRIBBS et al., 1996; SUEN et al., 2000; CHANG et al., 2007; GERVASI; KWOK; FAWCETT, 2008; LIU; MIN; BAO, 2009; SILVA et al., 2009; YOSHIDA; NAGAI, 2009; LI et al., 2010; PRATT et al., 2012; KNAUT, 2016
Dviol	Sementes de <i>Dioclea violácea</i>	Atividades antitumoral e cicatrizante	KNAUT, 2016
ACA	Sementes de <i>Amaranthus caudatus</i>	Atividade antitumoral	YU et al., 2001
WGA	Germe de Trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	Atividades antitumoral e antibacteriana	SCHAEFER et al., 1979 SCHWARZ et al., 1999
RegIII α	Intestino delgado humano	Atividade antibacteriana	MUKHERJEE et al., 2014
RegIII β	Intestino delgado humano	Atividade antibacteriana	MIKI; HARDT, 2013
WSMoL	Sementes de <i>Moringa oleifera</i>	Atividade antibacteriana	MOURA et al., 2015
Lectina de <i>A. jiringa</i> MLL 1 e MLL2	Sementes de <i>Archidendron jiringa</i> Folhas de <i>Morus alba</i>	Atividades antibacteriana e antifúngica Atividade antibacteriana	CHARUNGCHITRAK et al., 2011 RATANAPO; NGAMJUNYAPORN; CHULAVATNATOL, 2001
CasuL	Folhas de <i>Calliandra surinamensis</i>	Atividade antifúngica	PROCÓPIO et al., 2017b
Helja	Plântulas de <i>Helianthus annuus</i> .	Atividade antifúngica	REGENTE et al., 2014

LAL	Sementes de <i>Lutzelburgia auriculata</i>	Atividade antifúngica	OLIVEIRA et al., 2002; MELO et al., 2005
PHA	Sementes de <i>Phaseolus vulgaris</i>	Atividade antifúngica	YE et al., 2001
BanLec	<i>Musa acuminata</i>	Atividade antiviral	SWANSON et al., 2010
PpeL	Sementes de <i>Parkia pendula</i>	Atividade antiviral	FAVACHO et al., 2007
ConBr	Sementes de <i>Canavalia brasiliensis</i>	Atividade cicatrizante	SILVA et al., 2009
Cramoll 1,4	Sementes de <i>Cratylia mollis</i>	Atividade cicatrizante	MELO et al., 2011; PEREIRA et al., 2012

Tabela 1. Lectinas vegetais que têm sido relatadas como candidatas a potenciais ferramentas terapêuticas.

2 | ESTRUTURA E PROPRIEDADES DAS LECTINAS

O termo lectina vem do latim “*legere*” que significa escolher, selecionar. Esse termo somente foi proposto após a visualização macroscópica da hemaglutinação seletiva utilizando eritrócitos coletados de diferentes espécies animais (BOYD; SHAPLEIGH, 1954).

Geralmente, as lectinas são constituídas de protômeros com características estruturais que têm sido úteis para agrupá-las em famílias (VAN DAMME et al., 1998). O arranjo tridimensional diferencial desses protômeros é responsável pela grande diversidade de estruturas quaternárias já descritas. Independente da diversidade estrutural, as lectinas mantêm como propriedade comum a capacidade de ligar-se a carboidratos e discriminar glicoconjugados complexos de acordo com suas estruturas lineares, ou seja, a composição dos monossacarídeos e a natureza do padrão de ligações glicosídicas (WU et al., 2000; RAMOS et al., 2002). As lectinas apresentam origem não imunológica, ou seja, elas não são um anticorpo anticarboidrato e não são produzidas como resposta do sistema imune (FUSTER et al., 2003).

A ligação entre lectinas e carboidratos envolve um conjunto de interações relativamente fracas que resultam de uma afinidade química e permitem a desvinculação de seus ligantes após certo tempo. Desse modo, o mecanismo dessa ligação garante que ela ocorra com especificidade e apresente caráter reversível. As interações entre lectinas e carboidratos envolvem pontes de hidrogênio, forças de Van Der Waals, interações hidrofóbicas e coordenação metálica (FIGUEIROA et al., 2017).

O ensaio para detecção da presença de lectinas em determinada amostra é realizado utilizando-se eritrócitos humanos ou de outros animais e tem como fundamento a capacidade das lectinas em interagir com carboidratos da superfície

celular. A ligação cruzada entre as moléculas de lectina e os carboidratos da superfície de diferentes eritrócitos forma uma malha ou rede de aglutinação (Figura 1A).

Outros compostos que eventualmente estão presentes em amostras vegetais, incluindo os taninos, podem causar dispersão dos eritrócitos. Essa dispersão apresenta o mesmo padrão visual que o fenômeno da hemaglutinação. Dessa forma, para confirmar se o efeito observado é decorrente da presença de lectinas, costuma-se realizar um ensaio de inibição da atividade hemaglutinante em presença de uma solução concentrada contendo carboidratos livres (figura 1B). Neste ensaio, os carboidratos livres passam a ocupar os sítios de ligação a carboidratos na molécula de lectina e esta não pode causar aglutinação dos eritrócitos, os quais irão precipitar (PAIVA et al., 2012). Outra aplicabilidade do ensaio de inibição da atividade hemaglutinante é determinar a especificidade da lectina, sendo esta considerada específica para aquele carboidrato ou glicoconjugado que causar maior redução na sua atividade. A figura 2 mostra o aspecto do ensaio de atividade hemaglutinante em placa de microtitulação evidenciando a ausência de atividade e a formação da malha de hemaglutinação.

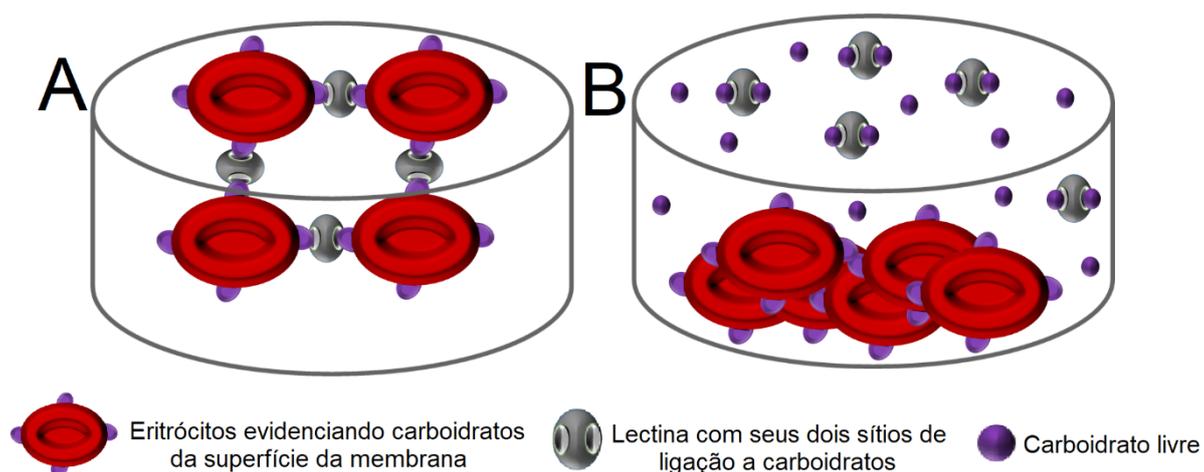


Figura 1. (A) Ensaio de atividade hemaglutinante utilizando eritrócitos humanos ou de outros animais, empregado para detecção da presença de lectinas em determinada amostra. (B) Ensaio de inibição da atividade hemaglutinante realizado em presença de carboidratos livres com o objetivo de confirmar a presença de lectinas em amostras contendo atividade hemaglutinante, ou de determinar a especificidade das lectinas detectadas.

Lectinas têm sido isoladas de plantas, algas, fungos, animais vertebrados ou invertebrados, bactérias e vírus. Em vegetais, elas são detectadas em várias de espécies (LORIS, 2002; SHARON; LIS, 2004; ALENCAR et al., 2005). As sementes de leguminosas constituem a principal fonte de lectinas, sendo estimado um teor de até 15% de todo seu conteúdo de proteínas. Porém, elas também estão presentes em outros tecidos vegetais, como: raiz, folha, talo, vagem, frutas, flores e casca (LAGARDA-DIAZ; GUZMAN-PARTIDA; VAZQUEZ-MORENO, 2017).

É bem conhecido que as lectinas podem estar envolvidas nos mecanismos de defesa dos organismos multicelulares, desempenhando um importante papel na

imunidade inata. Essa função está associada com epítomos de glicano semelhantes que ocorrem na superfície celular de patógenos e que podem consistir em sítios alvo para reconhecimento pelas lectinas (WOHLSCHLAGER et al., 2014). Esse envolvimento das lectinas nos mecanismos de defesa dos animais e das plantas pode estar relacionado com a sua habilidade de aglutinar e imobilizar células, bem como na toxicidade para alguns tipos celulares, incluindo microrganismos. A interação das lectinas na superfície celular pode levar à inibição do crescimento ou à morte por lise celular (PROCÓPIO et al., 2017a).



Figura 2. Aspecto do ensaio para detecção da presença de lectinas utilizando eritrócitos mostrando a ausência de atividade hemaglutinante e a formação da malha de hemaglutinação.

Duas evidências suportam o papel das lectinas no mecanismo de defesa das plantas: I. a presença de lectinas nos sítios de invasão por agentes infecciosos e II. a capacidade de ligação de lectinas à parede celular de vários fungos e sua habilidade em inibir o crescimento e a germinação de esporos (CHARUNGCHITRAK et al., 2011). De fato, o papel de lectinas no mecanismo de defesa de plantas pode ter evoluído da capacidade destas proteínas em aglutinar e imobilizar microrganismos (KHEEREE et al., 2010).

3 | LECTINAS COMO FERRAMENTAS TERAPÊUTICAS

Um levantamento feito até o ano de 2006 nos mercados farmacêuticos da América do Norte, Europa e Japão mostrou que 48,6% do total de 155 fármacos anticâncer clinicamente aprovados provêm de produtos naturais (NEWMAN; CRAGG, 2007). Neste sentido, as lectinas de plantas chamam a atenção de pesquisadores da área devido a sua capacidade antiproliferativa versátil (LI et al., 2010; ALBUQUERQUE et al., 2014) e indutora de morte celular programada incluindo apoptose e autofagia em células cancerígenas (LIU; MIN; BAO, 2009; LIU; BIAN; BAO, 2010)

Exemplos interessantes são a concanavalina A (ConA) que é uma proteína com domínio de lectina purificada de uma leguminosa (*Canavalia ensiformis*), a lectina da *Polygonatum cyrtoneuma* (PCL) da família GNA e as lectinas do visco (MLs) da família ricina-B (proteína inativadora de ribossomos), que exibem atividade antitumoral notável

por induzirem tanto apoptose quanto morte celular autofágica (ZHANG et al., 2012).

Três hipóteses existem para tentar entender como as lectinas de plantas determinam a morte de vários tipos de células cancerígenas: I. A lectina pode entrar na célula por endocitose e localizar seletivamente o seu alvo (por exemplo, alguma organela); II. A lectina pode ligar-se a receptores glicosilados, iniciando uma cascata de sinalização e III. A lectina pode causar inativação direta dos ribossomos (LIU et al., 2013).

Muitas lectinas de plantas são tóxicas para células humanas saudáveis ou podem produzir resposta de resistência a medicamentos; uma solução para isso poderia ser a modificação da molécula de lectina por mutação direta, com o objetivo de conceber outra substância sintética ideal como droga antitumor para utilização terapêutica com maior eficiência e menor toxicidade (MAIESE et al., 2012).

Além do efeito citotóxico, algumas lectinas de plantas têm sido utilizadas como ferramenta diagnóstica para diferenciar tumores malignos de benignos, e para marcar o grau de glicosilação associado com a metástase tumoral (LIU et al., 2013). Essa aplicação é possível devido à reconhecida alteração no padrão de glicosilação das células tumorais quando comparadas às células saudáveis, entre outros motivos, devido à expressão diferencial de enzimas da via de glicosilação.

ConA foi a primeira lectina de leguminosa a ser purificada e cristalizada (SUMNER; HOWELL, 1936). Desde então, essa lectina tem sido intensamente estudada e até utilizada como padrão em estudos utilizando outras lectinas. Muitos destes relatos apontam ConA como uma potente ferramenta citotóxica que induz apoptose em fibroblastos (KULKARNI; MCCULLOCH, 1995), neurônios (CRIBBS et al., 1996), macrófagos da linhagem PU5-1.8 (SUEN et al., 2000), células A375 de melanoma humano e HepG2 de carcinoma hepatocelular humano (LIU; MIN; BAO, 2009). Além disso, foi demonstrado que ConA liga-se preferencialmente a astrócitos reativos, (GERVASI; KWOK; FAWCETT, 2008), desencadeando morte celular apoptótica nessas células (YOSHIDA; NAGAI, 2009).

Indução de morte celular autofágica por ConA foi mostrada em células de hepatoma (LI et al., 2010) e na linhagem de glioma U87 (PRATT et al., 2012). Trabalhos têm mostrado que tanto a apoptose quanto a autofagia induzida por ConA ocorrem de forma mediada pelas mitocôndrias (CHANG et al., 2007; LIU; MIN; BAO, 2009; LI et al., 2010). Além da indução de apoptose e autofagia, ação antiangiogênica e de imunomodulação também foram descritas para a ConA. Knaut (2016) reportou que ConA e Dviol (Lectina extraída da semente de *Dioclea violacea*), induzem a morte celular autofágica de células C6 de glioma de rato.

Várias outras lectinas de plantas apresentaram toxicidade para células malignas “*in vitro*”. Por exemplo, a lectina de *Amaranthus caudatus* (ACA) apresentou atividade citotóxica e antiproliferativa contra células cancerígenas do cólon humano (YU et al., 2001). A aglutinina (WGA) do trigo (*Triticum aestivum* L.) foi capaz de se ligar a receptores de membrana de células de carcinoma pancreático humano, sendo

internalizada e promovendo a apoptose e a condensação da cromatina (SCHWARZ et al., 1999). Embora as lectinas pareçam ter grande potencial como agentes antitumoral, mais pesquisas ainda são necessárias e devem incluir uma abordagem genômica e proteômica.

Conforme será discutido a seguir, muitos estudos têm sido desenvolvidos no cenário científico internacional com o objetivo de apontar novos terapêuticos antimicrobianos de origem natural, incluindo as lectinas. Entretanto, trabalhos que revelem o mecanismo de ação antibacteriana ou antifúngica ainda são minoria. A definição desses mecanismos é um importante passo para a efetiva aplicação de novas drogas, uma vez que pode ser útil para definir estratégias de administração, aumentar a eficácia de possíveis formulações ou propor o uso como sinergistas de antibióticos já utilizados, bem como prever mecanismos prováveis de futura e inevitável resistência microbiana.

De fato, a parede celular das bactérias dificulta a interação entre glicoconjugados da membrana celular e proteínas ligadoras de carboidratos, além de dificultar a entrada dessas proteínas na célula. Contudo, a atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas ou Gram-negativas depende da interação das lectinas com componentes da parede celular, incluindo ácido teicóico e teicurônico, peptidoglicanos, e lipopolissacarídeos através de ligações fracas como pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas (PAIVA et al., 2010).

Apesar dessa dificuldade das lectinas em interagir com a membrana bacteriana ou penetrar na célula devido à presença da parede celular, algumas lectinas têm sido relacionadas com a capacidade de formar poros, o que causa a permeabilização da membrana bacteriana, resultando na extrusão do conteúdo celular. Um interessante exemplo é a lectina denominada RegIII α , a qual juntamente com outras lectinas tipo C RegIII são proteínas que melhoram a tolerância à microbiota intestinal por impedir a interação da bactéria com o epitélio intestinal humano. Mukherjee et al. (2014), através da quantificação da absorção do corante fluorescente *SYTOX green*, ao qual a membrana celular é impermeável sob condições normais, demonstraram que essa lectina liga fosfolipídios da membrana de bactérias Gram-positivas, causando a morte pela indução da formação de um poro hexamérico.

Em adição, os autores observaram que a lectina induz o rápido efluxo do corante fluorescente carboxyfluoresceína de lipossomas contendo fosfolipídios ácidos. Esse dado indicou que as interações de RegIII α com a bicamada lipídica envolve interações eletrostáticas entre a lectina e lipídios ácidos na membrana bacteriana. Interessantemente, a atividade formadora de poro de RegIII α foi inibida por lipopolissacarídeos, os principais constituintes da membrana externa de bactérias Gram-negativas, explicando porque RegIII α é apenas bactericida contra Gram-positivas.

A lectina RegIII β , a qual tem sua expressão regulada em resposta à colonização bacteriana no intestino de murinos, é hábil em ligar a porção lipídica do lipopolissacarídeo

(LPS), o principal componente da membrana externa de bactérias Gram-negativas (MIKI; HARDT, 2013). Estes autores mostraram que a cobertura da face exposta do lipídio A por um anticorpo anti-lipídio A na membrana de *Salmonella typhimurium* resulta na inibição do efeito bactericida de RegIII β , e concluíram que a interação entre a lectina e o LPS na superfície da bactéria é essencial para a atividade antibacteriana. Ainda, experimentos utilizando um corante fluorescente para intercalação com DNA (brometo de etídio) revelaram que RegIII β é realmente capaz de permeabilizar a membrana externa de *S. typhimurium*.

Moura et al. (2015) reportaram a atividade antibacteriana da lectina solúvel em água isolada das sementes de *Moringa oleifera* (WSMoL) contra bactérias corrosivas. Os Estes autores mostraram que o tratamento de *Serratia marcescens* com WSMoL resultou na perda da integridade da parede e da membrana celular e na forte extrusão de proteínas intracelulares de uma forma dose-dependente, sugerindo que este é um outro exemplo de lectina hábil em alterar a permeabilidade da membrana celular de bactérias.

A lectina do germe de trigo (WGA) causou aglutinação de células de *Neisseria gonorrhoeae* e os autores sugeriram a sua aplicação para o diagnóstico de gonorreia (SCHAEFER et al., 1979). A lectina das sementes de *Archidendron jiringa* Nielsen, mesmo em baixas concentrações, purificada por cromatografia de afinidade em ConA - Sepharose 4B, inibiu o crescimento das bactérias *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* e da levedura *Candida albicans* (CHARUNGCHITRAK et al., 2011).

Ratanapo, Ngamjunyaporn e Chulavatnatol (2001) mostraram que as lectinas provenientes das folhas da *Morus alba* (MLL 1 e MLL2) ligam de maneira específica o ácido N-glicosilneuramínico, sendo citotóxicas para bactérias fitopatogênicas, o que pode ser um reflexo do envolvimento dessa lectina na defesa da planta. Athamna et al. (2006) analisaram os diferentes padrões de aglutinação de bactérias promovidas por 23 lectinas e mostraram que a interação lectina-bactéria é uma boa ferramenta para identificar rapidamente espécies de *Mycobacterium*.

A atividade antifúngica de lectinas também tem sido reportada, e está comumente associada com a habilidade dessas proteínas em interagir com resíduos de N-acetilglicosamina na quitina da parede celular dos fungos, resultando na ação inibidora do crescimento e do desenvolvimento desses microrganismos, na redução da absorção de nutrientes, ou também interferindo no processo de germinação de esporos. A inibição do crescimento fúngico pode resultar da ligação das lectinas nas hifas, levando à pobre absorção de nutrientes. As lectinas também podem interferir na germinação de esporos ou prejudicar a síntese ou a deposição de quitina na parede celular (SÁ et al., 2009; COELHO et al., 2017).

Em 1936, Sumner e Howell mostraram em seus estudos clássicos que a ConA era capaz de aglutinar espécies de *Mycobacterium* e *Actinomyces*. Nos últimos anos, as pesquisas com lectinas antifúngicas têm se intensificado. Estudos mais aprofundados revelaram que a lectina isolada da folha de *Calliandra surinamensis* (CasuL) foi hábil

em inibir o crescimento de *Candida krusei*, e microscopia de contraste de interferência diferencial (DIC) revelou que a lectina induziu alterações morfológicas drásticas, incluindo retração do conteúdo citoplasmático e a presença de ruptura celular ou detritos celulares (PROCÓPIO et al., 2017b).

O tratamento com CasuL também pode ter prejudicado a divisão celular de *C. krusei* uma vez que os autores observaram muitas células com brotamento ou divisão celular incompleta. Em adição, trabalhando com o fluorocromo calcofluor, o qual é capaz de ligar à quitina presente na parede celular da levedura e pode ser usado para indicar sua integridade, Os autores observaram que CasuL afetou a integridade da parede celular de *C. krusei*, e concluíram que isso pode ser devido à desintegração da parede celular ou à ligação entre a lectina e a quitina, impedindo a síntese *de novo* da parede celular durante o desenvolvimento ou a divisão celular da levedura.

Lectinas antifúngicas também são hábeis em causar mudanças na permeabilidade celular dos fungos, como é o caso da lectina de plântulas de *Helianthus annuus* (sunflower) denominada Helja. Essa lectina causou alteração na permeabilidade da membrana plasmática de *Candida tropicalis*, *Pichia membranifasciens*, e *Candida albicans*, e estes resultados foram detectados através de microscopia de fluorescência (REGENTE et al., 2014). O tratamento de *C. tropicalis* com a lectina Helja também resultou na produção de espécies reativas de oxigênio.

A lectina isolada da semente de *Lutzelburgia auriculata* (LAL), que se liga a N-acetil-D-galactosamina, D-lactose, D-melibiose, D-galactose ou rafinose, inibiu o crescimento de *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium solani* e *Aspergillus Niger* (OLIVEIRA et al., 2002; MELO et al., 2005), enquanto a lectina da semente de *Phaseolus vulgaris* (PHA) suprimiu o crescimento dos fungos *Fusarium oxysporum*, *Coprinus comatus* e *Rhizoctonia solani* (YE et al., 2001).

O efeito de lectinas sobre vírus também tem sido estudado e a atividade antiviral dessas proteínas parece depender da sua habilidade em se ligar a oligossacarídeos que contêm manose presentes nas superfícies das glicoproteínas do envelope viral (BOTOS; WLODAWER, 2005; BALZARINI, 2006). Essa interação entre as lectinas e as glicoproteínas virais pode impedir ou dificultar a interação com as células hospedeiras. Lectinas que se utilizam deste mecanismo são conhecidas como lectinas ligantes de manose (MBL) (LIU et al., 2014). A lectina de banana (*Musa acuminata*), denominada BanLec, foi capaz de ligar uma proteína glicosilada do envelope do vírus HIV-1, bloqueando sua entrada na célula hospedeira (SWANSON et al., 2010).

A lectina de sementes de *Parkia pendula* (PpeL) inibiu a infectividade do citomegalovírus humano (HCMV) “*in vitro*”, mas não foi capaz de atuar sobre o vírus 6 da herpes humana (HIV-6) sugerindo especificidade e seletividade para esta atividade (FAVACHO et al., 2007).

A aplicabilidade das lectinas no reparo de lesões tem estimulado muitos estudos nessa área como os que avaliaram efeitos cicatrizantes das lectinas de *Dioclea violácea* (Dviol), *Canavalia brasiliensis* (ConBr), *Canavalia ensiformis* (ConA) e *Cratylia mollis*

(Cramoll 1,4) em feridas cutâneas (SILVA et al., 2009; MELO et al., 2011).

Relatos prévios revelaram que a lectina ConBr está envolvida na indução da síntese de proteases com atividade colagenolítica envolvidas no processo de cicatrização de feridas (SILVA et al., 2009).

A lectina extraída das sementes de *C. Brasiliensis*, ConBr, apresenta especificidade para D-glucose/D-manose e atua na proliferação de células do sistema imunológico e na produção de citocinas em ratos (SILVA et al., 2011). Dubois et al. (1998) demonstraram que a lectina ConA induz a produção da MMP-9 (gelatinase B) por linfócitos *in vitro*; essa protease em associação com a MMP-2 (gelatinase A) é fundamental para o processo de cicatrização de feridas e reparo tecidual (SILVA et al., 2009).

A aplicação tópica de hidrogel contendo Cramoll 1,4 no tratamento de queimaduras de segundo grau acelerou a granulação, retração e o processo de reepitelização em feridas cutâneas de ratos (PEREIRA et al., 2012). Melo et al. (2011), mostraram que o tratamento de feridas cutâneas em camundongos normais e imunocomprometidos com Cramoll 1,4 promoveu excelente fechamento e reparo das feridas em menor tempo quando comparado com o grupo controle.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A capacidade das lectinas em reconhecer carboidratos, precipitar glicoconjugados e aglutinar vários tipos celulares acarreta nas diversas aplicações biológicas e biotecnológicas descritas nesta revisão, e expressas pela capacidade de combater infecções e inflamações, revelar a presença de células anormais ou atuar como biomarcadores em várias doenças, ou ainda atuar nos processos de cicatrização através da indução do fechamento de feridas e da reepitelização de tecidos injuriados. A utilização de lectinas para produção de novos fármacos torna-se vantajosa diante da alta toxicidade que alguns agentes terapêuticos utilizados atualmente exercem sobre células saudáveis do hospedeiro, o que se reflete em fortes efeitos colaterais comumente observados em diversas terapias. Em adição, é também vantajoso o emprego das lectinas como novas alternativas para tratar infecções microbianas devido ao reconhecido desenvolvimento de resistência por diversas espécies de microorganismos aos antibióticos atualmente utilizados. Em conclusão, as lectinas parecem ser alternativas interessantes para melhoria na qualidade do diagnóstico e sucesso terapêutico.

5 | AGRADECIMENTOS

Os autores expressam sua gratidão ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo fomento à pesquisa (408789/2016-6). Isabella

C. Vila Nova agradece à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela bolsa de Iniciação Científica (BIC-2201-2.09/17). Welton A. de Almeida agradece ao CNPq pela bolsa de estudos de pós-graduação. Joaquim Evêncio Neto agradece ao CNPq pela bolsa de produtividade em pesquisa.

REFERÊNCIAS

AGRA-NETO, A. C. et al. Effect of *Moringa oleifera* lectins on survival and enzyme activities of *Aedes aegypti* larvae susceptible and resistant to organophosphate. **Parasitology Research** (1987. Print), v. 113, p. 175-184, 2014.

ALBUQUERQUE, L. P. et al. Toxic effects of *Microgramma vacciniifolia* rhizome lectin on *Artemia salina*, human cells, and the schistosomiasis vector *Biomphalaria glabrata*. **Acta Tropica**, v. 138, p. 23-27, 2014.

ALENCAR, V. B. et al. Lectin of *Pisum arvense* seeds induces in-vivo and in-vitro neutrophil migration. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 57, p. 375-381, 2005.

ATHAMNA, A. et al. Rapid identification of Mycobacterium species by lectin agglutination. **Journal of Microbiological Methods**, v. 65, n. 2, p. 209-215, 2006.

BALZARINI, J. Inhibition of HIV entry by carbohydrate-binding proteins. **Antiviral Research**, v. 2-3, p. 237-47, 2006.

BOTOS, I.; WLODAWER, A. Proteins that bind high-mannose sugars of the HIV envelope. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 2, p. 233-82, 2005.

BOYD, W. C.; SHAPLEIGH, E. Specific precipitating activity of plant agglutinins (lectins), **Science**, v. 119, p. 419, 1954.

BRUSTEIN, V. P. et al. A novel antimicrobial lectin from *Eugenia malaccensis* that stimulates cutaneous healing in mice model. **Inflammopharmacology**, v. 20, p. 315–322, 2012.

CHANG, C. P. et al. Concanavalin A induces autophagy in hepatoma cells and has a therapeutic effect in a murine in situ hepatoma model. **Hepatology**, v. 45, p. 286-296, 2007.

CHARUNGCHITRAK, S. et al. Antifungal and antibacterial activities of lectin from the seeds of *Archidendron jiringa* Nielsen. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1025-1032, 2011.

COELHO, L. C. B. B. et al. Lectins, Interconnecting Proteins with Biotechnological/ Pharmacological and Therapeutic Applications. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-22, 2017.

CRIBBS, D. H. et al. Crosslinking of concanavalin A receptors on cortical neurons induces programmed cell death. **Neuroscience**, v. 75, p. 173-185, 1996.

DUBOIS, B, et al. Regulation of gelatinase B (MMP-9) in leukocytes by plant lectins. **FEBS Letters**, p. 427-275, 1998.

FAVACHO, A. R. M. et al. In vitro activity evaluation of *Parkia pendula* seed lectin against

human cytomegalovirus and herpes virus 6. **Biologicals**, v. 35, p. 189-194, 2007.

FIGUEIROA, E. O. et al. Lectin-Carbohydrate Interactions: Implications for the Development of New Anticancer Agents. **Current Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 34, p. 3667-3680, 2017.

FUSTER, M. M. et al. A disaccharide precursor of sialyl Lewis X inhibits metastatic potential of tumor cells. **Cancer Research**, v. 63, p. 2775-2781, 2003.

GERVASI, N. M.; KWOK, J. C.; FAWCETT, J. W. Role of extracellular factors in axon regeneration in the CNS: implications for therapy. **Regenerative Medicine**, v. 3, p. 907-923, 2008.

KHEEREE, N. et al. Antifungal and antiproliferative activities of lectin from the rhizomes of *Curcuma amarissima* Roscoe. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, p. 912- 925, 2010.

KNAUT, J. L. **Avaliação do efeito citotóxico de lectinas extraídas de leguminosas sobre células de glioma C6**. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós Graduação em Neurociências. Florianópolis, SC, 2016, 101p.

KULKARNI, G. V.; MCCULLOCH, C. A. Concanavalin A induced apoptosis in fibroblasts: the role of cell surface carbohydrates in lectin mediated cytotoxicity. **Journal of Cellular Physiology**, v. 165, p. 119-133, 1995.

LACERDA, R. R. et al. Lectin isolated from Brazilian seeds of velvet bean (*Mucuna pruriens* (L) DC.) presents analgesic, anti-inflammatory and antihemolytic action. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 9, n. 8, p. 231-242, 2015.

LAGARDA-DIAZ, I.; GUZMAN-PARTIDA, A. M.; VAZQUEZ-MORENO, L. Legume Lectins: Proteins with Diverse Applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 6, 2017.

LI, C. Y. et al. Concanavalin A, from an Old Protein to Novel Candidate Anti-Neoplastic Drug. **Current Molecular Pharmacology**, v. 3, p. 123-128, 2010.

LIU, B.; MIN, M. W.; BAO, J. K. Induction of apoptosis by Concanavalin A and its molecular mechanisms in cancer cells. **Autophagy**, v. 5, p. 432-433, 2009.

LIU, B.; BIAN, H. J.; BAO, J. K. Plant lectins: potential antineoplastic drugs from bench to clinic. **Cancer Letters**, v. 287, p. 1-12, 2010.

LIU, Z. et al. Could plant lectins become promising anti-tumour drugs for causing autophagic cell death. **Cell Proliferation**, v. 46, p. 509-515, 2013

LIU, F. et al. Complemet and HIV-1 infection/HIV-associated neurocognitive disorders. **Journal of NeuroVirology**, v. 20, p. 184-98, 2014.

LORIS, R. Principles of structures of animal and plant lectins. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1572, p. 198– 208, 2002.

MAIESE, K. et al. Targeting disease through novel pathways of apoptosis and autophagy. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 16, p. 1203-1214, 2012.

- MELO, C. M. L. et al. Healing activity induced by Cramoll_{1,4} lectin in healthy and immunocompromised mice. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 408, p. 113-119, 2011.
- MELO, V. M. M. et al. A cotyledonary agglutinin from *Luetzelburgia auriculata* inhibits the fungal growth of *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium solani* and *Aspergillus niger* and impairs glucose-stimulated acidification of the incubation medium by *Saccharomyces cerevisiae* cells. **Plant Science**, v. 169, p. 629-639, 2005.
- MIKI, T.; HARDT, W. D. Outer Membrane Permeabilization Is an Essential Step in the Killing of Gram-Negative Bacteria by the Lectin RegIII β . **Plos One**, v. 8, 2013.
- MOURA, M.C. et al. Water-soluble *Moringa oleifera* lectin interferes with growth, survival and cell permeability of corrosive and pathogenic bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119, n. 3, p. 666-676, 2015.
- MUKHERJEE, S. et al. Antibacterial membrane attack by a pore-forming intestinal C-type lectin. **Nature**, v. 199, n. 7481, p. 103-107, 2014.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. **Journal of Natural Products**, v. 70, p. 461-477, 2007.
- OLIVEIRA, J. T. et al. Purification and physicochemical characterization of a cotyledonary lectin from *Luetzelburgia auriculata*. **Phytochemistry**, v. 61, n. 3, p. 301-310, 2002.
- PAIVA, P. M. G. et al. Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. **Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**, v. 1, p. 396-406, 2010.
- PAIVA, P. M. G. et al. Effects of Plant Lectins and Trypsin Inhibitors on Development, Morphology and Biochemistry of Insect Larvae. In: Kia Pourali; Vafa Niroomand Raad. (Org.). *Larvae: Morphology, Biology and Life Cycle*. 1ed. New York: **Nova Publishers Sciences**, p. 37-55, 2012.
- PEREIRA, D. S. T. et al. Topical Application Effect of the Isolectin Hydrogel (Cramoll 1,4) on Second-Degree Burns: Experimental Model. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2012, p. 11, 2012.
- POVINELI, K. L.; FINARDI FILHO, F. The multiple functions of plant lectins. *Nutrire*. **Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 24, p. 135-156, 2002.
- PRATT, J.; ROY, R.; ANNABI, B. Concanavalin-A-induced autophagy biomarkers requires membrane type-1 matrix metalloproteinase intracellular signaling in glioblastoma cells. **Glycobiology**, v. 22, p. 1245-1255, 2012.
- PROCÓPIO, T. F. et al. CasuL: A new lectin isolated from *Calliandra surinamensis* leaf pinnulae with cytotoxicity to cancer cells, antimicrobial activity and antibio film effect. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 98, p. 419-429, 2017a.
- PROCÓPIO, T. F. et al. Antibacterial Lectins: Action Mechanisms, Defensive Roles and Biotechnological Potential. In: Erika Collins. (Org.). **Antibacterials: Synthesis, Properties and Biological Activities**. 1ed. New York: Nova Science Publishers, Inc., 2017b, p. 69-89.

- RAMOS, M. V. et al. Interaction of Diocleinae lectins with glycoproteins based in surface plasmon resonance. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 275-279, 2002.
- RATANAPO, S.; NGAMJUNYAPORN, W.; CHULAVATNATOL, M. Interaction of a mulberry leaf lectin with a phytoathogenic bacterium, *P. syringae* pv *mori*. **Plant Science**, v. 160, p. 739-744, 2001.
- REGENTE, M. et al. A Sunflower Lectin with Antifungal Properties and Putative Medical Mycology Applications. **Current Microbiology**, p. 88–95, 2014.
- SÁ, R. A. et al. Antibacterial and antifungal activities of *Myracrodruon urundeuva* heartwood. **Wood Science and Technology**, v. 43, p. 85-95. 2009.
- SCHAEFER, R. L.; KELLER, K. F.; DOYLE, R. J. Lectins in diagnostic microbiology: use of wheat germ agglutinin for laboratory identification of *Neisseria gonorrhoeae*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 10, p. 669–672, 1979.
- SCHWARZ, R. E. et al. Wheatgerm agglutinin-mediated toxicity in pancreatic cancer cells. **British Journal of Cancer**, v. 80, n. 11, p. 1754–1762, 1999.
- SHARON, N.; LIS, H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. **Glycobiology**, v. 14, n. 11, p. 53–62, 2004.
- SILVA, F. O. et al. Perfil de proteases de lesões cutâneas experimentais em camundongos tratados com lectina isolada das sementes de *Canavalia brasiliensis*. **Ciência Rural**, v. 39, n. 9, p. 1808-1814, 2009.
- SILVA, F. O. et al. Immunostimulatory activity of ConBr: a focus on splenocyte proliferation and proliferative cytokine secretion. **Cell and Tissue Research**, v. 2, n. 346, p. 237-244, 2011.
- SUEN, Y. K. et al. Concanavalin A induced apoptosis in murine macrophage PU5-1.8 cells through clustering of mitochondria and release of cytochrome c. **Apoptosis**. v. 5, p. 369-377, 2000.
- SUMNER, J. B.; HOWELL, S. F. Identification of Hemagglutinin of Jack Bean with Concanavalin A. **Journal of Bacteriology**. v. 32, p. 227-237, 1936.
- SWANSON, M. D. et al. lectin isolated from bananas is a potent inhibitor of HIV replication. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 285, n. 12, p. 8646-55, 2010
- VAN DAMME, E. J. et al. Plant lectins: A composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. **Critical Reviews in Plant Sciences**. v. 17, p. 575-692, 1998.
- WOHLSCHLAGER, T. et al. Methylated glycans as conserved targets of animal and fungal innate defense. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.8, n. 111, p. 2787–2796, 2014.
- WU, G. et al. Stripped stem borer (*Chilo suppressalis*) resistant transgenic rice with a *cry1Ab* gene from *Bt* (*Bacillus thuringiensis*) and its rapid screening. **Journal of Zhejiang**

University, v. 19, n. 3, p. 15-18, 2000.

YE, X. Y. et al. Isolation of a homodimeric lectin with antifungal and antiviral activities from red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. **Journal of Protein Chemistry**, v. 20, p. 367-375, 2001.

YOSHIDA, H.; NAGAI, K. Induction of apoptotic cell death preferentially in reactive astrocytes by concanavalin A. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. v. 108, p. 248-251, 2009.

YU, L. G. et al. Opposite effects on human colon cancer cell proliferation of two dietary Thomsen Friedenreich antigen-binding lectins. **Journal of Cellular Physiology**, v. 186, n. 2, p. 282–287, 2001.

ZHANG, X. et al. Plant natural compounds: targeting pathways of autophagy as anti-cancer therapeutic agents. **Cell Proliferation**. v. 454, p. 466-476, 2012.

ABORDAGENS DAS DOENÇAS TROPICAIS NEGLIGENCIADAS

Suelem Leite da Silva

Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Cascavel-PR, Brasil.

Dagoberto Riva

Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Cascavel-PR, Brasil.

Simona Renz Baldin

Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Cascavel-PR, Brasil.

Sônia de Lucena Mioranza

Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Cascavel-PR, Brasil.

RESUMO: Embora existam financiamentos para pesquisas relacionadas às doenças negligenciadas, o conhecimento produzido nem sempre se reverte em avanços terapêuticos, como, por exemplo, novos fármacos, vacinas e métodos de diagnósticos. O baixo número de medicamentos desenvolvidos para doenças negligenciadas é devido principalmente pelo baixo interesse comercial da indústria farmacêutica, dos órgãos governamentais e dos pesquisadores. De modo geral, os poucos medicamentos existentes são ultrapassados, muitos deles apresentam resistência pelos agentes etiológicos, são tóxicos, apresentam efeitos colaterais e são difíceis de administrar. A falta de ferramentas para diagnóstico das Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN), de

baixo custo é um problema para a identificação dos pacientes infectados, confirmação de cura e monitoramento do impacto do tratamento em massa. Observa-se que existem inúmeras dificuldades no combate as DTN, são obstáculos que impedem o desenvolvimento de novas tecnologias, produção, Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) de estratégias efetivas de controle. Desta forma, as medidas de combate as DTN devem ser fortalecidas e os investimentos em P&D para novos produtos farmacêuticos, e estratégias de diagnóstico devem ser aumentados, porém também necessita-se de medidas mais amplas de combate as DTN, assim como saneamento básico e melhorias de infra-estrutura.

PALAVRAS-CHAVE: Tratamento, diagnóstico, controle e investimentos.

1 | INTRODUÇÃO

As DTN são um problema para a sociedade há muitos anos, pois afetam principalmente as populações que vivem em ambientes marcados pela pobreza. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) as DTN formam um grupo de 17 enfermidades que acometem principalmente as regiões tropicais, das quais a maioria já foi altamente prevalente, porém com o desenvolvimento social algumas tornaram-

se menos frequentes (ANDRADE; ROCHA, 2015). Aproximadamente um bilhão de pessoas são acometidas por uma ou mais DTN, o que provoca cerca de 534.000 mortes por ano (MACHADO et al., 2009). As infecções por estas doenças provocam sérios impactos sociais, políticos e econômicos pois podem ocasionar incapacidades e deficiências nos infectados (LINDOSO; LINDOSO, 2009). Conjuntamente com os desafios econômicos, os países são caracterizados pela ocorrência de infecções endêmicas e doenças que não estão presentes ou são raras nos países desenvolvidos (MACHADO et al., 2009). Os principais microrganismos causadores destas infecções são parasitas, bactérias, fungos e vírus. Muitos destes patógenos e seus vetores possuem estratégias de controle para evitar a disseminação de doenças, porém várias não são efetivas fazendo com que a patologia permaneça na sociedade. Algumas DTN são altamente prevalentes e conseqüentemente o seu controle torna-se mais difícil. Segundo a OMS elas foram divididas em grupos com base no controle, na emergência e na disponibilidade de medicamentos. A dengue, a tripanossomíase humana africana e a leishmaniose estão no principal grupo, pois não possuem controles efetivos e são amplamente emergentes. No segundo grupo estão a malária, esquistossomose e tuberculose que possuem estratégias de controle, contudo a carga da doença permanece. No terceiro grupo estão doenças em que o controle foi eficiente e a prevalência diminuiu consideravelmente para hanseníase, doença de chagas, filariose linfática e oncocercose. Esta classificação da OMS está relacionada com a associação das enfermidades com a pobreza, com seu controle e o desenvolvimento de novos medicamentos (LINDOSO; LINDOSO, 2009).

A P&D de novos medicamentos para o tratamento e prevenção das DTN não é o foco principal das grandes indústrias farmacêuticas, as quais estão voltadas para a produção e comercialização de produtos com alto valor agregado. De maneira geral, as grandes empresas investem seus recursos de P&D em medicamentos utilizados em tratamentos de doenças degenerativas assim como o câncer e o Alzheimer, em que a comercialização destes produtos geram retornos financeiros maiores, do quando comparados com produtos para DTN (DECIT, 2010). Dados mostram que a indústria farmacêutica atua como um oligopólio, com medicamentos em diferentes segmentos de classes terapêuticas específicas. Além disso, 40% do mercado farmacêutico mundial estão de posse das 10 maiores empresas as quais são responsáveis por cerca de 90% dos produtos farmacêuticos para consumo humano. O diferencial da indústria brasileira é a presença de um grupo público de laboratórios farmacêuticos que produzem medicamentos, soros e vacinas voltados às necessidades do Sistema Único de Saúde (SUS) e possui outras atividades voltadas para o combate das DTN, ação que é ignorada pelas grandes empresas farmacêuticas e que não faz parte de suas estratégias de mercado. Grande parte dos medicamentos produzidos nos laboratórios públicos é comercializada para o próprio o Ministério da Saúde (MS) com o intuito de garantir melhores condições de saúde às populações carentes (SOUZA et al., 2015).

O Brasil é responsável por grande parte da quantidade de DTN na América latina e Caribe. Isso mostra que boa parte da população, principalmente a acometida pela pobreza, está infectada com uma ou mais DTN. Apesar de, nos últimos anos ter aumentado o interesse em pesquisas referentes às DTN, poucos projetos tem ido adiante. Uma das razões, é que estas doenças acometem, principalmente, pessoas com baixo poder político e econômico, e devido a isso, há pequeno interesse das indústrias farmacêuticas nesta área (SILVA; NICOLETTI, 2013).

A indústria farmacêutica vem apresentando, ao longo de toda sua história, um ritmo acelerado de inovações tecnológicas, necessária para sua sobrevivência no mercado e que resultaram em um fluxo contínuo de novos produtos. Essas foram quase sempre implementadas por empresas a partir de elevados investimentos em P&D tecnológico, mas em estreita cooperação com outras instituições, em geral públicas ou sem fins lucrativos (BASTOS, 2006). Entretanto, no período entre 1975 e 2004, apenas 1% dos 1.535 novos fármacos registrados foram destinados às Doenças Tropicais Negligenciadas (DIAS; DESSOY, 2009). Este pequeno numero de fármacos sugere que o investimento em P&D para elaboração de novos compostos para DTN é inadequado, como evidencia disto, o investimento em malária e pelo menos 80 vezes menor que o para HIV/ AIDS (VIDOTTI; CASTRO, 2009).

2 | TRATAMENTO PARA DOENÇAS TROPICAIS NEGLIGENCIADAS

Muitos dos medicamentos utilizados no tratamento das DTN foram desenvolvidos há décadas, apresentam alta toxicidade e desencadeiam efeitos colaterais, como os fármacos de primeira e segunda escolha para o tratamento da leishmaniose, onde as duas opções acarretam problemas ao doente. Ademais, como no tratamento da tuberculose, os fármacos necessitam serem administrados por um longo período para serem eficazes, o que leva grande parte dos infectados a abandonarem a terapia (NICOLETTI; LOPES DA SILVA, 2014).

Os laboratórios públicos de administração direta sofrem com a falta de flexibilidade e agilidade gerenciais, especialmente no que se refere à aquisição de insumos, comprometendo, muitas vezes, os prazos de entrega ou o engajamento dos laboratórios em compromissos de vulto com quantidades pré-estabelecidas. Devido à falta de investimento, os laboratórios oficiais que são reféns dos grandes laboratórios internacionais, em um mercado orientado pela competitividade na inovação tecnológica, podem contribuir para aumentar a concorrência no setor e sobretudo, facilitar o acesso das pessoas de baixa renda aos medicamentos, em especial aos de uso contínuo (ANDRADE DE OLIVEIRA; LABRAI; BERMUDEZI, 2006).

As drogas mais difundidas na quimioterapia da doença de chagas são o nifurtimox e benzonidazol, sendo apenas a última disponível no Brasil. Desenvolvidos há mais de 40 anos, são apenas eficazes na fase aguda da doença e necessitam de

um longo período para uma ação terapêutica efetiva. Estas drogas estão longe de serem conceituadas como adequadas no que diz respeito à toxicidade e na atividade exercida sobre os diferentes parasitas (ARAÚJO, 2010).

A primeira alternativa de tratamento para a hanseníase começou com a dapsona, rifampicina e clofazimina sendo utilizadas como monoterapia e apresentando resistência e efeitos colaterais. Posteriormente, a OMS incluiu a Poliquimioterapia (PQT), que se mostrou útil e com menos efeitos adversos. Entretanto, mesmo com esta opção, as metas de eliminação da doença ainda não foram alcançadas em razão da resistência medicamentosa ainda persistir, além da existência de falhas nas informações para o aprimoramento da terapêutica proposta e do baixo número de profissionais capacitados (NICOLETTI; LOPES DA SILVA, 2014).

As drogas mais utilizadas para o tratamento da esquistossomose são praziquantel e oxamniquina, que se mostram relativamente eficazes na ação esquistossomicida e com poucos efeitos adversos, mas deixam a desejar na erradicação da doença, pois não interrompem a transmissão da parasitose. (SOEIRO, *et al*, 2009)

A farmacoterapia das leishmanioses constitui-se de poucas opções como os antimoniais pentavalentes, anfotericina B e pentamidina e apresentam alta incidência de resistência pelo parasita. O antimoniato de meglumina foi estabelecido pela OMS como a droga de primeira escolha para o tratamento da leishmaniose visceral e de todas as formas clínicas, porém, é um fármaco que exige cuidados especiais na sua administração em razão da sua cardiotoxicidade, hepatotoxicidade e nefrotoxicidade (SILVA JÚNIOR, 2016).

Entre as opções de antimaláricos está a cloroquina (CQ), que pertence à classe das aminoquinilinas e que vem sendo até hoje um fármaco barato e eficaz no tratamento da doença. A resistência frente à cloroquina já vem sendo observada em vários casos, o que indica a necessidade do desenvolvimento de novas drogas para malária (FRANCISCO; VARGAS, 2010).

No Brasil, foi organizada, em 2003, a primeira Conferência Nacional de Medicamentos e Assistência Farmacêutica. Nesta, foram adotadas proposições que visam à criação de política pública específica para P&D de fármacos e medicamentos conforme as necessidades de saúde, seguindo critérios epidemiológicos e sociais (VIDOTTI, 2007).

Como uma das ações tomadas no objetivo de intervir nessa situação, a Iniciativa de Drogas para Doenças Negligenciadas (DNDi) pesquisa e desenvolve novos tratamentos para as doenças negligenciadas e tem como parceiros fundadores o Instituto Pasteur, na França, a Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), no Brasil, o Ministério da Saúde da Malásia e os institutos de pesquisa clínica da Índia e do Quênia (PONTES, 2009).

Segundo o DNDi alguns novos tratamentos estão disponíveis para as principais doenças negligenciadas, no tratamento da malária o ASAQ combinação em dose fixa de artesunato (AS) e amodiaquina (AQ), lançada em 2007 em parceria com a Sanofi, esta

disponível em 33 países nos quais 170 milhões de tratamentos já foram distribuídos; e ASMQ: combinação de artesunato (AS) e mefloquina (MQ) em 2008 registrada no Brasil, disponível na Índia, Malásia e Myanmar, com 100 mil tratamentos distribuídos. Para doença de chagas o Benznidazol em dosagem pediátrica que possibilita tratar pacientes com até dois anos de idade na fase aguda da doença, registrada no Brasil (DNDI, 2016).

3 | DIAGNÓSTICO

Uma das dificuldades para diagnóstico das DTN é a falta de ferramentas prontamente disponíveis, fáceis de usar, confiáveis, de baixo custo de diagnóstico que fazem o monitoramento do impacto dos programas de tratamento em massa, e acompanhamento de doenças com possibilidade de re-infecção. Enquanto recentemente tem havido um maior reconhecimento do papel dos diagnósticos, há falta de financiamento. O investimento no desenvolvimento de diagnósticos adequados possibilitará a detecção precoce das doenças. Para doenças controladas através de programas de tratamento em massa, é preciso testes para identificar e mapear as populações que necessitam de tratamento e aqueles em que a transmissão foi interrompida com sucesso. Novos diagnósticos também são extremamente importantes para o monitoramento da eliminação e progresso, e da vigilância contínua (HOTEZ *et al*, apud Muray S., 2014).

Diagnósticos de baixa qualidade podem atrasar ou evitar o tratamento adequado, o que resulta em tratamento desnecessário com terapias que podem ser mal toleradas, ou ambos. Porque as DTN são normalmente encontradas em ambientes com sistemas de saúde frágeis com infra-estrutura laboratorial fracos, são necessários testes de diagnóstico sensíveis e específicos nos locais de atendimento; no entanto, a ausência de um mercado rentável tem desencorajado as empresas comerciais de investir no desenvolvimento de testes para DTN (LAMMIE *et al*, 2011).

No entanto, atualmente ainda estamos no estágio de descobertas de biomarcadores para novos diagnósticos das doenças como chagas e helmintíases transmitidas pelo solo. Para outras, há pouco no horizonte de desenvolvimento e não há financiamento disponível (HOTEZ *et al*, 2016).

4 | ESTRATÉGIAS DE CONTROLE E INVESTIMENTOS PARA AS DTN

O Brasil é responsável por grande parte da quantidade de DTN na América latina e Caribe. Isso mostra que boa parte da população, principalmente a acometida pela pobreza, está infectada com uma ou mais DTN. Apesar de, nos últimos anos ter aumentado o interesse em pesquisas referentes as DTN, poucos projetos tem ido adiante. Uma das razões, é que estas doenças acometem, principalmente, pessoas

com baixo poder político e econômico, e devido a isso, há pequeno interesse das indústrias farmacêuticas nesta área (SILVA; NICOLETTI, 2013).

Essas doenças persistem devido às múltiplas causas, falha de ciência, ou seja, conhecimentos insuficientes, o que requer uma reorganização do sistema nacional de pesquisa levando em conta a construção de um elo entre a produção do conhecimento e sua aplicação nos diversos setores. Outra causa, seria a falha de mercado, isto é, alto custo de medicamentos ou vacinas, o que exigem mecanismos inovadores de financiamento ou negociações. A falha da saúde pública pode ser uma das principais causas da persistência destas doenças na sociedade, os planejamentos deficientes para diagnósticos e tratamentos exigem novas estratégias de intervenção (VILLA, 2009).

Com base neste cenário, o MS começou a realizar oficinas de prioridades onde reunia pesquisadores, gestores e profissionais de saúde para estabelecer temas de pesquisas para estruturar editais públicos. Com a formação destas redes de pesquisa o objetivo era obter novas fontes de financiamentos, e recrutar novos colaboradores para a partilha de conhecimentos e com isso resolver os problemas sociais e de saúde pública (SILVA; NICOLETTI, 2013)

Em 2003 iniciou as primeiras atividades do MS com foco nas DTN, com a abertura do edital para tuberculose, e nos dois anos seguintes surgiram editais para dengue e hanseníase. Em 2006 foi realizada a primeira oficina de prioridades em DTN, em que deu início ao Programa de Pesquisa e Desenvolvimento em Doenças Negligenciadas no Brasil. Neste Programa foram estabelecidas algumas prioridades com base na epidemiologia das DTN, em que se destacaram os editais para malária e dengue. O edital “Rede Malária” foi criado em 2009 e teve a participação dezessete estados brasileiros onde a doença era mais prevalente. Estes editais receberam investimentos financeiros milionários, sendo 15,4 milhões e 22,7 milhões, para cada doença, respectivamente (SILVA; NICOLETTI, 2013).

O Brasil tem liderado a procura de soluções no combate as DTN, financiamentos para o combate a dengue torna-o como um dos principais países em desenvolvimento, engajado nas pesquisas para o fim da doença. Apesar de significativos, estes investimentos ainda são poucos na área das DTN, principalmente quando são comparados com os que foram feitos para outras doenças, como a AIDS (SILVA EL; NICOLETTI MA, 2013). De 2003 a 2007 o auxílio público para projetos de saúde como AIDS/ HIV foi de 36,6 %, para a malária foi de 3,6%, para tuberculose de 2,2%, enquanto que para as demais DTN não chegou a 1% (LIESE; ROSENBERG; SCHRATZ, 2010). Em 2014, MS repassou para estados e municípios brasileiros o valor de R\$ 150 milhões para que fossem investidos em atividades de prevenção, medidas de melhoria da assistência e de contingência. Os repasses de verbas do MS para o combate ao mosquito *Aedes Aegypti*, transmissor da dengue, tem se mantido crescente nos últimos anos. Em 2011, o valor investido era de R\$ 970,4 mil, o que representa um acréscimo de 28,8% nos recursos ao longo de cinco anos. Outro destaque do MS, foi em 2015,

o investimento de R\$ 23 milhões na compra de inseticidas e larvicidas. O governo federal destinou o recurso de R\$ 1,27 bilhão para o desenvolvimento das ações de vigilância em saúde, incluindo o combate ao mosquito *Aedes aegypti* em 2016. Além de intensificar as ações e medidas de vigilância, prevenção e controle da dengue, febre chikungunya e Zika. Ademais, o MS realiza a aquisição de insumos estratégicos e *kits* de diagnósticos, para auxiliar os gestores locais no combate ao mosquito. O MS também acompanha outras iniciativas, como o uso de mosquitos geneticamente modificados, uso de telas impregnada de inseticida em portas e janelas, sistema de detecção de epidemias, dentre outras ações (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Há diversas parcerias nacionais e internacionais que foram criadas ao longo do tempo para o enfrentamento das DTN. Desde 2014 a Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), em parceria com MS, desenvolve o projeto “Eliminar a Dengue: Desafio Brasil” o objetivo do projeto é propor o uso de uma bactéria naturalmente encontrada no meio ambiente, a *Wolbachia* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). Esta bactéria, quando presente no *Aedes aegypti*, é capaz de impedir a transmissão da dengue e chikungunya pelo mosquito (HOFFMANN *et al.*, 2011). Estudos também estão sendo realizados para mensurar o impacto dela na transmissão do vírus Zika. É importante ressaltar que esta iniciativa não possui fins lucrativos, é uma abordagem inovadora para reduzir a transmissão de DENV (vírus da dengue) pelo *Aedes aegypti* de forma natural e autossuficiente. A pesquisa é inovadora no Brasil e na América Latina, porém estudos já foram realizados, com sucesso, na Austrália, Vietnã e Indonésia, onde não existem relatos de aumento dos casos de microcefalia (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Outro exemplo de parceria realizada em 2015 foi a estabelecida entre a Organização britânica Ross Funde a Fundação Bill & Melinda Gates, a qual tem realizado recentemente inúmeros esforços a fim de combater a malária. O resultado desta parceria foi um investimento aproximado de US\$ 1,5 bilhão no desenvolvimento de vacinas e inseticidas para combater o mosquito transmissor da doença e seus efeitos. Segundo o *Journal The times of London* a união do Governo Federal britânico e Bill Gates vai proporcionar o investimento de US\$ 4,3 bilhões em pesquisas para erradicar a malária. O montante será investido ao longo dos próximos cinco anos. A fundação de Gates doará cerca de US\$ 285 milhões ao ano, ao passo que, outros US\$ 715 milhões sairão dos cofres públicos britânicos todos os anos, enquanto durar a parceria. Tanto o governo britânico quanto Gates acreditam que novos inseticidas devem ser desenvolvidos até 2020 a fim de evitar que a situação da malária se torne ainda pior (THE TIMES OF LONDON, 2016).

Anível nacional, o estado Mato Grosso, tendo em vista alto número de notificações de hanseníase, sendo o estado com maior número de casos, promoveu uma ação juntamente com Secretaria de Saúde do estado e apresentou um “Plano Estratégico para Enfrentamento da Hanseníase”, definindo metas para o período de 2016-2019, com investimento próximo dos R\$ 14 milhões (PORTAL BRASIL, 2015). Em 2016

a OMS também apresentou estratégias para reforçar as medidas de controle desta doença a nível mundial. O objetivo deste projeto com duração de 2016-2020 é evitar as deficiências e deformidades, principalmente em crianças, que são acometidas por esta doença nos países endêmicos (WHO¹, 2013).

A tuberculose também é uma doença negligenciada e altamente prevalente, para seu controle e prevenção em países menos desenvolvidos foram disponibilizados em 2016, 6,6 bilhões de dólares. Embora pareça um recurso de grande proporção, este investimento mundial ainda está aquém em aproximadamente 2 bilhões de dólares, sendo essencial 8,3 bilhões para que houvesse condições adequadas de cuidado, prevenção e controle da tuberculose. Alguns países subdesenvolvidos permanecem dependendo de doadores, através de financiamentos internacionais, como o Fundo Global de Combate a AIDS, Tuberculose e Malária, com mais de 75% do recurso proveniente deste Fundo (WHO², 2016).

5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observa-se que existem inúmeras dificuldades no combate as DTN, são obstáculos que impedem o desenvolvimento de novas tecnologias, produção, P&D de estratégias efetivas de controle, e que sejam aplicadas a prevenção das DTN. Com isso, ressalta-se a importância de ampliar os investimentos em pesquisas, mas também é preciso investimento por parte dos gestores e órgãos governamentais competentes em saneamento básico, condições de higiene da população, educação e programas educativos. Tudo isso com o objetivo de promover conscientização e redução da proliferação dos vetores e agentes etiológicos destas doenças. Desta forma, as medidas de combate as DTN devem ser fortalecidas e os investimentos em P&D para novos produtos farmacêuticos, assim como vacinas, também devem ser aumentados. Considera-se que apenas o tratamento farmacológico, mesmo profilático não será suficiente para eliminação das doenças negligenciadas necessitando de medidas mais amplas de combate. Há uma dificuldade para o desenvolvimento de novas ferramentas para diagnóstico das DTN, devido à falta de interesse e desenvolvimento, pois essas doenças afetam principalmente os países mais pobres. Essa falta de recurso e diagnóstico refletem na dificuldade de monitorar e confirmar a doença, tratamento e possível re-infecção.

O ambiente que propicia a infecção também necessita de mudanças imprescindíveis. A situação econômica da população merece maior atenção por parte dos governantes, investimentos na infraestrutura das cidades, incluindo rede de água tratada e esgoto em toda extensão nacional, são condições muito distantes da realidade dos países, como o Brasil. É a resolução destes fatores, que proporcionam o desenvolvimento do país e melhoram as condições de vida da sociedade e fariam com que diminuísse a incidência das doenças negligenciadas (SILVA; NICOLETTI, 2013).

Pois uma maneira eficiente de combater as doenças negligenciadas é combatendo a pobreza (LIESE; ROSENBERG; SCHRATZ, 2010).

REFERÊNCIAS

ANDRADE, B. L. A. D.; ROCHA, D. G. **Doenças negligenciadas e bioética: diálogo de um velho problema com uma nova área do conhecimento.** Revista Bioética, p. 105-113, 2015.

OLIVEIRA, A.; LABRAI M. E.; BERMUDEZI, J. **A produção pública de medicamentos no Brasil: uma visão geral.** Caderno Saúde Pública, v.22(11), 2006.

ARAÚJO, N. **Associação de fármacos na terapêutica experimental da esquistossomose mansoni.** Belo Horizonte: Centro de Pesquisa René Rachou; 2010. Disponível em: <http://www.cpqrr.fiocruz.br/texto-completo/T_22.pdf> Acesso em 18 de Dez de 2016

BASTOS, V. D. **Laboratórios farmacêuticos oficiais e doenças negligenciadas: perspectivas de política pública.** Revista BNDES. V.13(25):269-98, 2006.

DECIT-Departamento de Ciência e Tecnologia, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Ministério da Saúde. Revista Saúde Pública. v.44(1):200-2, 2010.

DIAS L. C; DESSOY, M.A. **Quimioterapia da doença de chagas: estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos.** Revista Química Nova. v.32:2444-57, 2009.

DNDI. Iniciativa Medicamentos Doenças Negligenciadas 2016. Disponível em: <<http://www.dndial.org/pt/tratamentos.html>> Acesso em 16 de Dez de 2016.

FRANCISCO A.I; VARGAS M.D. **Ferroquina: o antimalárico do futuro.** Revista Virtual Química 2010. Disponível em: <<http://www.uff.br/RVQ/index.php/rvq/article/viewFile/93/133>> Acesso em 17 de Dez de 2016.

HOFFMANN, A. A. MONTGOMERY B.L; POPOVICI J; ITURBE-ORMAETXE I; JOHNSON P.H; MUZZI F; GREENFIELD M; DURKAN M; LEONG Y.S; DONG Y; COOK H; AXFORD J; CALLAHAN A.G; KENNY N; OMODEI C; MCGRAW E.A; RYAN P.A; RITCHIE S.A; TURELLI M; O'NEILL S.L. **Successful establishment of Wolbachia in Aedes populations to suppress dengue transmission.** Nature, v. 476(7361):454-7, 2011.

HOTEZ, P. J.; PECOUL, B.; RIJAL, S.; BOEHME, C.; AKSOY, S.; MALECELA, M.; TAPIA-CONYER, R.; REDDER, J. C. **Eliminating the Neglected Tropical Diseases: Translational Science and New Technologies 2016.** Disponível em: <http://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0003895> . Acessado em: 18 dez 2016.

LINDOSO, J. A. L.; LINDOSO, A. A. B. P. **Neglected tropical diseases in Brazil.** Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 247-253, 2009.

LIESE, B.; ROSENBERG, M.; SCHRATZ, A. **Programmes, partnerships, and governance for elimination and control of neglected tropical diseases.** Lancet, v. 375 (9708):67-76, 2010.

LAMMIE, P.; SOLOMON, A.; SECOR, E.; PEELING, R. **Diagnostic Needs for NTD Programs. The causes of Impacts of Neglected Tropical and Zoonotic Diseases: Opportunities for Integrated Intervention Strategies.** Institute of Medicine (US) Forum on Microbial Threats. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK62529/> . Acesso em 18 de dezembro 2016.

MACHADO, C. M. ET AL. MARTINS, T.C; COLTURATO, I; LEITE M.S; SIMIONE, A.J; SOUZA M.P; MAUAD M.A; COLTURATO V.R. **Epidemiology of neglected tropical diseases in transplant recipients: review of the literature and experience of a Brazilian HSCT center.** Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, p. 309-324, 2009. Ministério da Saúde. Dengue, 2016. Disponível em < www.saude.gov.br> Acesso em 12 de Dez de 2016

NICOLETTI, M. A.; LOPES DA SILVA, E. **Controle E Tratamento Das Doenças Negligenciadas: Visão Da Situação Atual.** Revista Saúde-UnG, v. 7(3-4) 65-81, 2014.

PONTES F. **Doenças negligenciadas ainda matam 1 milhão por ano no mundo.** Revista Inovação em Pauta. 6:69-73, 2009.

PORTAL BRASIL. **Mobilização fortalece combate à hanseníase em Mato Grosso,** 2015. Disponível em <http://www.brasil.gov.br/saude/2015/08/mobilizacao-fortalece-combate-a-hanseniose-em-mato-grosso>> Acesso em 23 de Nov, 2016.

SILVA, E.L, NICOLETTI, M.A. **Control and Treatment of Neglected Diseases in brazil: a current situation view.** Revista Saúde, v.7(3/4):65-81, 2013.

SILVA JÚNIOR J.B. **Antimoniato de meglumina.** Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v34n1/4327.pdf>> Acesso em 18 de dez de 2016.

SOEIRO, M.N.C; DANTAS, A.P; DALIRY, A.; SILVA, C.F.; BATISTA, D.G.J.; SOUZA, E.M. **Experimental chemotherapy for Chagas disease: 15 years of research contributions from in vivo and in vitro studies.** Mem Inst Oswaldo Cruz 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/mioc/v104s1/40.pdf>> Acesso em 18 de dez de 2016.

SOUZA, A. L. P. D. **The Brazilian Network for Public Production of drugs in the perspective of supply chain management: the role of ICTs: el papel de las TIC.** Revista de Administração Pública, p. 615-641, 2015.

THE TIMES OF LONDON. **Malaria: it's a fight we can win together.** The Times of London, 2016. Disponível em <<https://m.canaltech.com.br/noticia/bill-gates/bill-gates-e-reino-unido-vao-investir-us-4-bi-na-erradicacao-da-malaria-56737/>> Acesso em 08 de dez de 2016.

VIDOTTI, C.C.F.; CASTRO, L.L.C. **Fármacos novos e necessidades do sistema único de saúde no Brasil.** Revista Espaço Saúde [Online]. 10:7-11, 2009.

VIDOTTI, C.C.F. **Medicamentos Novos e as Necessidades do Sistema Único de Saúde: políticas públicas para pesquisa e desenvolvimento de fármacos no Brasil** [tese de Doutorado]. Universidade de Brasília; 2007.

VILLA, T.C.S. **Estratégias de pesquisa para o controle de doenças negligenciadas: projetos colaborativos de enfermagem em rede.** Rev Latino-am Enfermagem. v 17(4):437-438, 2009.

WHO1. Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases - Second WHO report on neglected tropical diseases, 2013. Disponível em <http://www.who.int/neglected_diseases/9789241564540/en/> Acesso em 07 de Dez de 2016.

WHO2. Global Tuberculosis Report 2016. Disponível em: <<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250441/1/9789241565394-eng.pdf?ua=1>> Acesso em 04 de Dez de 2016.

AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE FERRITINA E COLESTEROL LDL EM PACIENTES ATENDIDOS PELO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DO OESTE DO PARANÁ

Fernanda Weyand Banhuk

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Cascavel – Paraná

Dayane Bassotto da Costa

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Cascavel – Paraná

Taimara Brustolin

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Cascavel – Paraná

Taise Regina Ficagna

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Cascavel – Paraná

Thiago Luiz Fucuta de Moraes

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Cascavel – Paraná

RESUMO: O objetivo do presente trabalho foi o de correlacionar os índices de ferritina e colesterol LDL (c-LDL) de um grupo de pacientes hospitalares. A ferritina sérica, apesar de ser um indicador de reserva corporal de ferro, pode estar aumentada em estados inflamatórios. O depósito de ferro nos macrófagos da parede arterial é aumentado em lesões ateroscleróticas através do aumento da oxidação do colesterol LDL. Os resultados da literatura têm sido conflitantes em relação à associação entre ferritina e aterosclerose, com estudos afirmando ou negando esse possível efeito deletério. Com

isso o objetivo desse trabalho foi verificar uma possível correlação entre os valores de ferritina e c-LDL. Foi realizada coleta dos valores de ferritina e c-LDL dos pacientes atendidos de janeiro a junho de 2016 no Hospital Universitário do Oeste do Paraná com buscas no banco de dados do sistema Tasy®. Os resultados estatísticos foram analisados com auxílio do programa estatístico R®. Não houve correlação significativa entre os valores de ferritina e c-LDL na amostra analisada.

PALAVRAS CHAVE: Marcador inflamatório; Aterosclerose; Doença cardiovascular.

ABSTRACT: LDL (c-LDL) is a group of hospital patients. Serum ferritin, despite being an indicator of iron body reserve, may be increased in reference states. Iron deposition in macrophages of the arterial wall is increased in atherosclerotic lesions by increasing the oxidation of LDL cholesterol. The literature results have been conflicting with the association between ferritin and atherosclerosis, with studies stating or denying the possible deleterious effect. In order to perform the first task between the values of ferritin and c-LDL. Phase of collection of the values of ferritin and LDL-C of the patients attended from January to June of 2016 at the Hospital Universitário do Oeste do Paraná with no database of Tasy® system. The results obtained were based on the statistical

program R®. The ferritin and LDL-c levels were analyzed in the analyzed test.

KEYWORDS: Inflammatory markers, Atherosclerosis; Cardiovascular disease.

1 | INTRODUÇÃO

O metabolismo do ferro envolve diversos componentes, como a transferrina circulante, medula óssea, eritrócitos e macrófagos reticuloendoteliais. O ferro apresenta particularidades, quando em excesso é armazenado no fígado, no músculo é incorporado a mioglobina e quantidade mínima pode ser perdida pela mucosa intestinal (LAKS, 2010).

A regulação da quantidade de ferro corporal é realizada através do processo de absorção que ocorre nos enterócitos, na porção proximal do intestino delgado. Após os íons de ferro serem incorporados à molécula de ferritina, ocorre a conversão destes íons ao seu estado férrico. Aproximadamente 4500 íons de ferro são armazenados em cada molécula de ferritina (LAKS, 2010).

A ferritina é a principal forma de reserva de ferro. Ela se encontra basicamente no fígado e uma pequena parte se dissolve no plasma, podendo ser detectada laboratorialmente. Devido à proporcionalidade entre ferritina total no organismo e a parte solubilizada, a dosagem sérica pode ser usada para estimar os estoques de ferro. Por esse motivo, dentro da avaliação do estado nutricional de ferro, o método mais eficiente para se avaliar as reservas orgânicas é a dosagem de ferritina sérica (MIRAGLIA et al., 2015). Por outro lado, possíveis interferências nesse tipo de análise estão no fato de que outros processos podem afetar a expressão plasmática de ferritina. Em condições basais, a produção de ferritina é regulada pela reserva de ferro, mas em processos inflamatórios, por exemplo, a síntese de ferritina é aumentada pela ação da IL-1 e de TNF. Tal processo, apesar de não alterar o estoque real de ferro, aumenta a expressão plasmática de ferritina, fazendo com que os níveis séricos encontrem-se aumentados (MIRAGLIA et al., 2015).

A obesidade, por apresentar processo inflamatório de base crônica, é outro fator relacionado a esse aumento. Essa relação é explicada pela fisiologia do tecido adiposo que, através de sua ação endócrina, estimula a ativação da cascata inflamatória. Tal ação dificulta a avaliação do real estado nutricional das reservas de ferro no paciente obeso, visto que o aumento da ferritina pode estar associado tanto à uma possível deficiência de ferro, quanto ao processo inflamatório da própria morbidade (MIRAGLIA et al., 2015).

Além disso, a ferritina sérica pode ser considerada uma proteína de fase aguda. Devido à atuação de citocinas que incorporam o ferro nos hepatócitos, sua concentração, em contextos de inflamação, pode aumentar ou diminuir em até 25% (MIRAGLIA et al., 2015; LAKS, 2010).

A variação da concentração de proteínas de fase aguda em um processo inflamatório é resultado da modificação da produção das mesmas pelos hepatócitos.

Embora as concentrações dos componentes da resposta de fase aguda geralmente aumentam simultaneamente, nem todas aumentam da mesma forma em pacientes com a mesma enfermidade (LAKS, 2010).

O colesterol LDL - *Low Density Lipoprotein* - (c-LDL), lipoproteína de baixa densidade, é um constituinte normal do sangue também chamado de “mau colesterol”. O c-LDL transporta o colesterol do fígado até as células dos tecidos e favorece o seu acúmulo nas paredes internas das artérias, diminuindo o fluxo do sangue e, está diretamente relacionado à doenças cardíacas (JUNIOR, 2016).

Uma anomalia no metabolismo do c-LDL ou em seu transporte no plasma parece estar ao desenvolvimento de aterosclerose, pois c-LDL em excesso é depositado na camada íntima do vaso e oxidado, modificando a estrutura natural do c-LDL. Assim, as células endoteliais não reconhecem essas moléculas e interpretam como sinais de perigo, pedindo auxílio ao sistema imunológico. Esse processo pode resultar na formação de uma placa aterosclerótica e promover doenças cardiovasculares e vasculares cerebrais (JUNIOR, 2016).

A descoberta da relação do aumento dos níveis de ferritina e citocinas inflamatórias sugere relação com biomarcadores das respostas inflamatórias associados à aterosclerose. O depósito de ferro nos macrófagos da parede arterial é aumentado em lesões ateroscleróticas através do estresse oxidativo, resistência à insulina, diminuição da atividade antioxidante do plasma e aumento da oxidação do c-LDL, toxicidade endotelial direta e maior ativação de macrófagos, resultando em maior captação de c-LDL oxidado (FREITAS, 2012).

Embora tais mecanismos já tenham sido estudados, os resultados da correlação entre ferritina e aterosclerose na literatura têm sido conflitantes, em relação a esse possível efeito deletério (JUNIOR, 2016).

2 | OBJETIVO

Avaliar a possível correlação entre os valores de ferritina e c-LDL em pacientes ambulatoriais do Hospital Universitário do Oeste do Paraná, Brasil.

3 | METODOLOGIA

Foi realizado um estudo transversal e retrospectivo analisando os níveis de ferritina e colesterol LDL no laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário do Oeste do Paraná – HUOP, no período de janeiro de 2016 à maio de 2016.

A pesquisa de dados foi realizada através do software de gerenciamento hospitalar Tasy®, e, foram selecionados apenas pacientes que fizeram o exame de perfil lipídico (colesterol LDL, colesterol HDL, colesterol VLDL, colesterol total e triglicerídeos) e ferritina ao mesmo tempo, para posterior avaliação da relação entre essas variáveis,

usando como critério de exclusão a realização de apenas ou outro exame.

Após a coleta de dados, foi realizada a análise estatística utilizando o software *R Development Core Team*, versão 2008, para a obtenção dos resultados.

4 | RESULTADOS

Foram coletados, através dos prontuários eletrônicos do software Tasy®, os resultados dos exames de ferritina e perfil lipídico, que compreende os exames de colesterol HDL, colesterol LDL e, colesterol VLDL, de 115 pacientes ambulatoriais do Hospital Universitário do Oeste do Paraná – HUOP. Dentre estes, 27 (23,5%) do sexo masculino e 88 (76,5%) do sexo feminino, com idade entre 2 e 88 anos e média de 41,66 anos.

Foram realizados a análise descritiva (Tabela 1) e o teste de normalidade de todos os dados coletados. A Figura 1 mostra a dispersão dos níveis de ferritina e c-LDL. O valor médio encontrado para ferritina foi de 164,10 ng/mL e 88,72 mg/dL para o colesterol LDL, sendo que os valores de referência para estes exames variam de 6 à 159 ng/mL e até 100 mg/dL, respectivamente.

Através do histograma e boxplots dos dados de ferritina e c-LDL (Figura 2), pode-se observar que as amostras apresentaram-se com assimetrias positiva e negativa, respectivamente. Em relação ao valor de curtose, as amostras apresentaram distribuição leptocúrtica e levemente leptocúrtica, respectivamente. Os conjuntos de dados apresentaram distribuições não normais de acordo com o teste de normalidade *Shapiro-Wilk*, indicando que a relação entre os pares de dados não é linear, e, por isso, fez-se o teste de correlação de *Spearman*, teste para dados não-paramétricos, o qual demonstrou que não houve correlação significativa entre a ferritina e colesterol LDL.

	Média	Mediana	Desvio Padrão	Assimetria	Curtose
Ferritina	163,50	92,15	201,4871	2,549599	9,646232
Colesterol HDL	47,16	46,00	11,77186	1,009573	5,959392
Colesterol LDL	89,31	89,50	27,98669	-0,01093091	3,227144
Colesterol total	163,0	162,5	32,25327	-0,2127689	3,433923
Triglicerídeos	134,7	122,5	68,39775	1,063687	3,681548

Tabela 1. Análise Descritiva dos Dados de Pacientes Ambulatoriais

Tamanho da amostra: 115

Por ter sido coletado os dados de perfil lipídico, também foram realizados testes de correlação de *Spearman* com os outros parâmetros, os quais demonstraram que não houve correlação entre a ferritina e colesterol HDL e, entre a ferritina e colesterol total. Entretanto, o teste de correlação demonstrou a correlação significativa entre a

ferritina e triglicerídeos com p-valor igual a 0,004455 e valor do coeficiente rho igual a 0,2645182, com nível de significância estabelecido em 5%, considerando o valor de α igual 0,05. Não foram encontrados estudos que demonstrassem essa mesma relação.

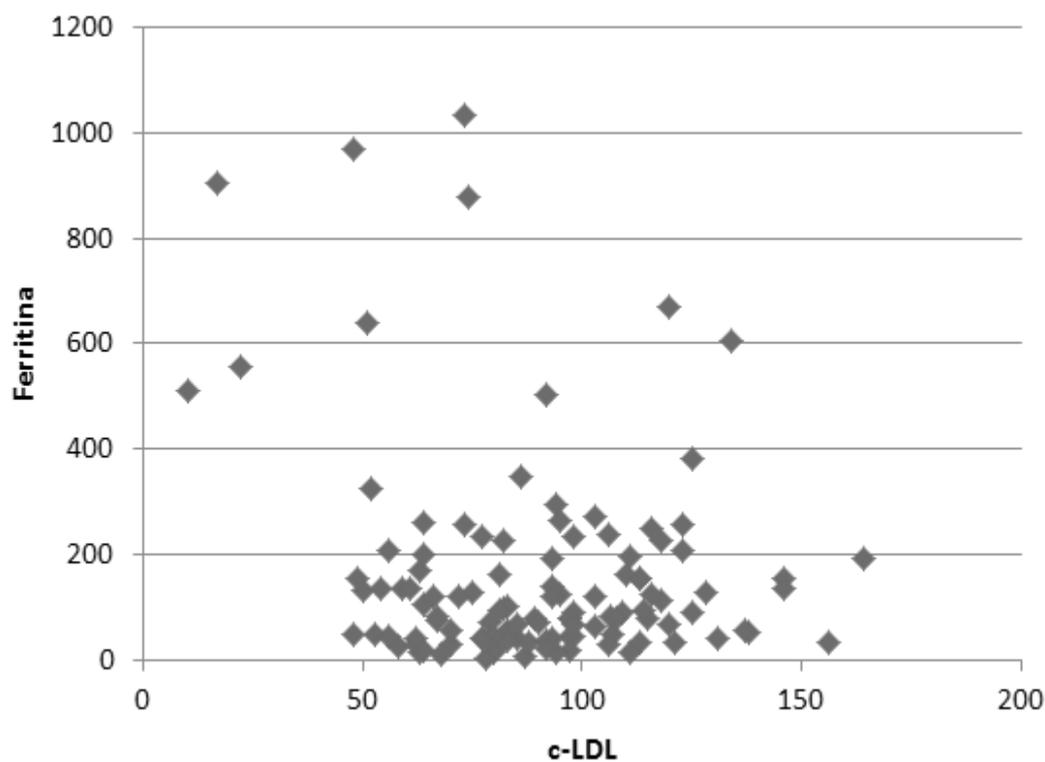


Figura 1. Gráfico de dispersão dos níveis de Ferritina e c-LDL.

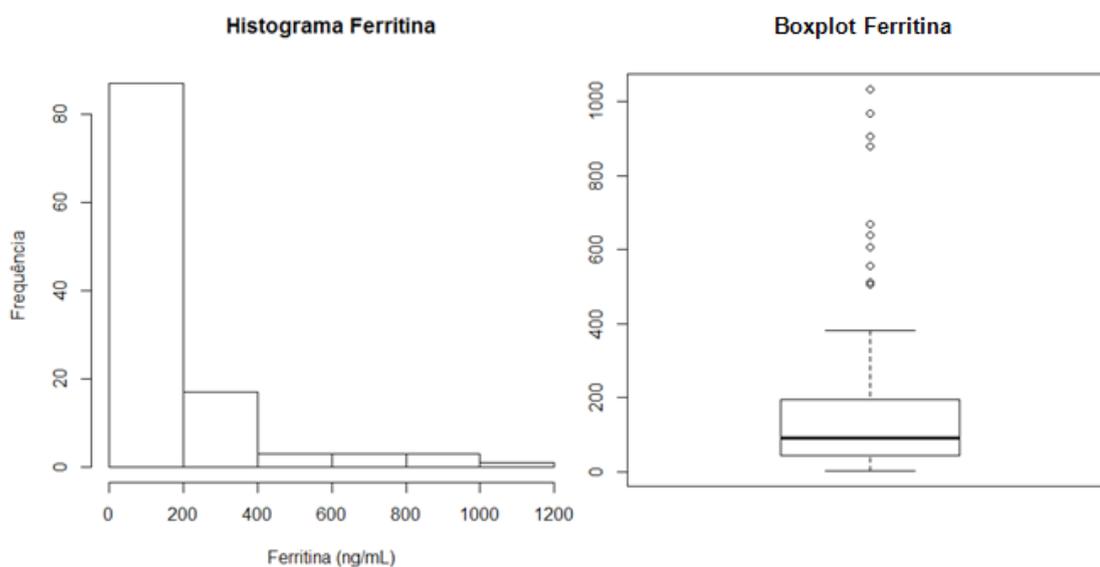


Figura 2. Histograma e Boxplot do conjunto de dados de Ferritina.

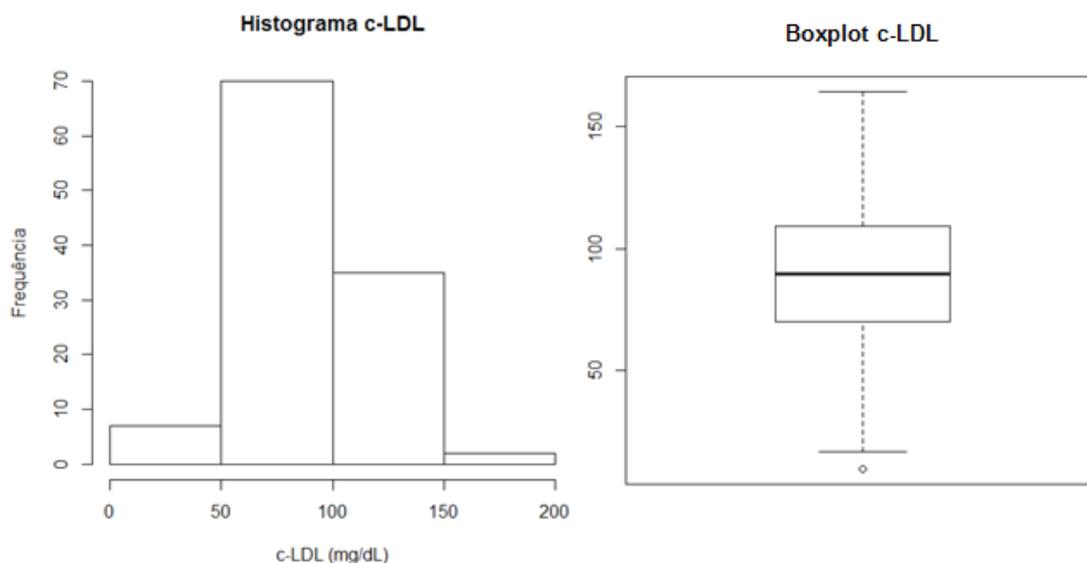


Figura 3. Histograma e Boxplot do conjunto de dados de colesterol LDL.

5 | DISCUSSÃO

A partir dos resultados estatísticos encontrados é possível compreender que não existe uma relação entre os índices de ferritina e colesterol LDL nos pacientes em questão. Em estudo feito por Lobo et al., (2012), foi descrita uma correlação positiva entre lipoproteína de baixa densidade (LDL) eletronegativa e ferritina, diferentemente do que foi encontrado no presente estudo.

Também foi encontrada uma relação positiva no estudo de Salonen et al., (1995), que verificaram que pacientes com ferritina sérica igual ou maior que 200 mg/L tiveram 2,2 vezes mais risco de infarto em comparação com aqueles apresentando níveis mais baixos e, que a associação com o LDL-colesterol foi maior naqueles que apresentavam níveis acima de 193 mg/dl.

Bozzini et al., avaliaram indivíduos portadores de doença arterial coronariana e determinaram a ferritina sérica. Como resultados, obtiveram que os níveis de ferritina foram levemente mais altos nos pacientes que possuíam algum problema cardiovascular, mas após a realização de ajuste dos valores por sexo e níveis de proteína C reativa, concluíram que os depósitos de ferro não são preditores de risco cardiovascular.

Não foram encontrados estudos que relatassem a correlação significativa entre a ferritina e triglicerídeos.

Por ser uma proteína marcadora nos casos de deficiência de ferro, a ferritina faz parte do diagnóstico laboratorial de anemias ferroprivas (SILVA, et al, 2016). A amostra estudada apresentou em sua maioria pacientes do sexo feminino (76,5%), podendo estar relacionado ao risco de anemia aumentado. Visto que, de maneira geral, mulheres tendem a apresentar menores reservas de ferro que os homens

devido ao fluxo menstrual e, portanto, tornam-se mais suscetíveis à essa patologia (RODRIGUES & JORGE, 2010).

6 | CONCLUSÃO

O presente estudo analisou a possível relação dos níveis de ferritina e colesterol-LDL de pacientes ambulatoriais de um hospital universitário do Paraná.

Não foi encontrada a correlação significativa entre a ferritina e o colesterol LDL, em análise transversal, não sendo possível considerar a ferritina sérica como marcador inflamatório na amostra em questão. A correlação significativa entre a ferritina e triglicerídeos, encontrada nessa amostra, não foi observada em outros estudos.

Tornam-se necessários novos estudos com metodologia prospectiva e com avaliações mais específicas para uma análise mais profunda do tema, a fim de esclarecer a possível relação entre a ferritina e o colesterol LDL, associada à aterosclerose.

REFERÊNCIAS

BOZZINI, C., GIRELLI, D., TINAZZI, E., OLIVIERI, O., STRANIERI, C., BASSI, A., et al. **Biochemical and genetic markers of iron status and the risk of coronary artery disease: an angiography-based study**. Clin Chem. 2002; 48 (4): 622-8.

FREITAS, T. S. **Ferritina como marcador de risco cardiovascular em pacientes soropositivos para HIV com lipodistrofia**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação UNESP. Universidade Estadual Paulista, 2012.

GODOY, M. F. de, et al. **Ferritina sérica e coronariopatia obstrutiva: correlação angiográfica**. Arq. Bras. Cardiol., São Paulo, v. 88, n. 4, p. 430-433, Abr. 2007.

JUNIOR, F.J. **O excesso de ferro aumenta a incidência de câncer, de infarto do miocárdio e de infecções de repetição**. Disponível em: < <http://www.medicinabiomolecular.com.br/biblioteca/pdfs/Biomolecular/mb-0076.pdf> >. Acesso 21 Jun 2016.

LAKS, D. **Ferritina como marcador de resposta inflamatória sistêmica em crianças criticamente doentes**. Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina da PUCRS. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

LOBO, J.C., FARAGE, N.E., ABDALLA, D.S., VELARDE, L.G., TORRES, J.P., MAFRA, D. **Association between circulating electronegative low-density lipoproteins and serum ferritin in hemodialysis patients: a pilot study**. J Ren Nutr 2012;22:350-6.

MIRAGLIA, F.; ASSIS, M. C. S.; BEGHETTO, M. G.; ALMEIDA, C. A. N.; MELLO, E. D. **A Ferritina sérica é bom marcador de deficiência de ferro em adolescentes obesos?** International Journal of Nutrology, v. 8, n. 4., p.72-76, 2015.

RODRIGUES, L. P.; JORGE, S. R. P. F. **Deficiência de ferro na mulher adulta**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. [online]., vol.32, suppl.2, pp.49-52. Epub June 07, 2010.

SALONEN, J.T., KORPELA, H., NYSSONEN, K., PORKKALA, E., TUOMAINEN, T.P., BELCHER, J.D., et al. **Lowering of body iron stores by blood letting and oxidation resistance of serum lipoproteins: a randomized cross-over trial in male smokers.** J Intern Med. 1995; 237 (2): 161-8.

SILVA, P. H., et al. **Hematologia Laboratorial : teoria e procedimentos.** Porto Alegre : Artmed, p 138-139, 2016.

OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE ELLMAN PARA A DETERMINAÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE EM ERITRÓCITOS

Fabiana Sari Ferreira

Universidade Estadual do Oeste do Paraná –
UNIOESTE
Cascavel – Paraná

Fernanda Coleraus Silva

Laboratório de Toxicologia Celular - UNIOESTE
Cascavel – Paraná

Ana Maria Itinose

Centro de Assistência em Toxicologia – CEATOX/
HUOP
Cascavel - Paraná

Carla Brugin Marek

Laboratório de Toxicologia Celular - UNIOESTE
Cascavel – Paraná

RESUMO: Alguns agrotóxicos como os carbamatos e organofosforados podem levar a quadros graves de intoxicação devido a inibição das colinesterases, sendo que uma das formas de auxiliar no diagnóstico é a determinação da atividade destas enzimas no sangue. Porém, algumas condições metodológicas são importantes para o ideal desempenho das enzimas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar possíveis condições que otimizem a metodologia proposta por Ellman e colaboradores a fim de alcançar uma melhor reprodutibilidade. O método foi adaptado para a determinação da atividade da acetilcolinesterase em eritrócitos. Foram

testadas algumas possibilidades de interferência nos resultados, como o comprimento de onda espectrofotométrico, temperatura, tempo de incubação, diluição e agitação da amostra. A atividade enzimática da acetilcolinesterase mostrou-se variável, conforme as mudanças ocorridas, após diferentes condições estabelecidas para a reação. Foi possível perceber que as amostras sob agitação e aquelas submetidas a incubação, apresentaram resultados mais homogêneos, diminuindo o erro padrão. A temperatura e o comprimento de onda também apresentaram considerável influência na atividade enzimática. As amostras completamente misturadas em seu meio de reação durante o preparo, expressaram menor dispersão entre os resultados das triplicatas. Desta forma, sugerimos uma agitação vigorosa da solução antes das leituras das absorbâncias para obtenção de melhores resultados, além da temperatura controlada em 37°C durante as leituras em espectrofotômetro a 405nm.

PALAVRAS-CHAVE: atividade enzimática, colinesterase, interferentes.

ABSTRACT: Some pesticides such as carbamates and organophosphates cause serious poisonings because of the inhibition of cholinesterases. One way to diagnosis those cases is through the determination of enzyme activity in the blood. However, some conditions

are important for the best performance of the enzymes. Thus, this work aimed to evaluate possible conditions to improve the methodology proposed by Ellman and collaborators in 1961. The method was adapted for the determination of erythrocyte acetylcholinesterase activity. Some possibilities of interfering in the results were tested, such as spectrophotometer wavelength, temperature, incubation time, dilution of sample and shaking. The enzymatic activity of erythrocyte acetylcholinesterase was shown to be variable as the changes occurred after different conditions established for the reaction. The samples under agitation and those submitted to incubation showed results more homogeneous, reducing the standard error. Temperature and wavelength also had considerable influence on erythrocyte acetylcholinesterase activity. The samples that were best mixed with the buffer during the preparation expressed less dispersion among the results of the triplicates. Thus, we suggest a vigorous solution shaking before readings the absorbance for better results, in addition is necessary to control temperature at 37°C during spectrophotometer readings at 405nm.

KEY WORDS: enzymatic activity, cholinesterase, interference.

1 | INTRODUÇÃO

Os neurônios são células do sistema nervoso especializadas na captação e transmissão de estímulos internos ou externos. Essa transmissão de informações, de modo geral, acontece através de sinapses, onde os estímulos passam de um neurônio para o outro através da reação de um neurotransmissor ou mediador químico com os receptores na membrana pós-sináptica (GUYTON & HALL, 2006).

Os receptores colinérgicos são divididos em dois grupos, os nicotínicos e os muscarínicos, os quais são formados por canais iônicos regulados por ligantes, neste caso a acetilcolina, que atua como o neurotransmissor. Esta é liberada na fenda sináptica, através de um potencial de ação. Uma vez na fenda sináptica, a acetilcolina precisa ser removida de forma rápida para que ocorra a repolarização. Em seguida, ocorre a sua hidrólise em acetato e colina catalisada pela acetilcolinesterase (E.C. 3.1.1.7) (SILVA, 2010).

A acetilcolinesterase é, portanto, uma importante enzima responsável na manutenção do sistema colinérgico ao catalisar a hidrólise da acetilcolina. Essa reação catalítica acontece por meio de um mecanismo envolvendo diversos passos que permitem a cessação do impulso nervoso nas sinapses colinérgicas (ZHOU, WANG & ZHANG, 2010). Sua elevada atividade no sistema nervoso central se faz característica, atuando principalmente nos neurônios motores e sensoriais. No entanto, como todo o organismo é dependente da neurotransmissão para o seu bom funcionamento, a acetilcolinesterase também é encontrada em outros tecidos, tanto centrais como periféricos (MASSOULIE et al., 1993).

Assim, quando há inibição das colinesterases, a hidrólise da acetilcolina fica comprometida, fazendo com que os níveis deste neurotransmissor fiquem elevados, e conseqüentemente haja aumento do seu tempo de duração na fenda sináptica.

Tal acontecimento pode levar a constante estímulo dos receptores colinérgicos (NORDBERG & SVENSSON, 1998). Alguns agrotóxicos como os carbamatos e organofosforados podem levar a quadros graves de intoxicação devido a inibição das colinesterases e, uma das formas de diagnóstico é através da determinação da atividade destas enzimas no sangue (ROBERTS & REIGART, 2013).

Para isto, um método espectrofotométrico foi proposto por Ellman et al. (1961) que, através da reação de hidrólise da acetilcolina catalisada pela acetilcolinesterase, forma-se tiocolina e acetato. A atividade da enzima pode ser medida através do aumento da coloração amarela produzida pela tiocolina quando esta reage com 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoico), também conhecido como DTNB ou Reagente de Ellman.

O método em questão traz como procedimento a adição de solução tampão fosfato em um tubo de ensaio com DTNB, na sequência a adição da amostra (fonte de enzima) e, logo em seguida, adicionado o substrato de acetiltiocolina. Para a determinação da atividade, a leitura da absorbância deve ser realizada em espectrofotômetro a 405nm a 37°C a cada 30 segundos, durante dois minutos (ELLMAN et al., 1961).

Como as enzimas podem ser facilmente desnaturadas, algumas importantes condições são necessárias para a eficiência da reação. A regulação da atividade enzimática depende de fatores como o tempo de exposição, pH e temperatura para o seu ideal desempenho durante a catalise das reações (LEHNINGER & NELSON, 2006). Assim, apesar dos autores informarem as condições para o sucesso das análises, a variação nos resultados de uma mesma amostra causa transtornos nas análises, por isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar possíveis condições que possam otimizar a metodologia desenvolvida por Ellman et al. (1961) a fim de melhorar a reprodutibilidade dos ensaios.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

No método descrito por Ellman et al. (1961), foi preparada uma suspensão estável a partir de sangue total ou eritrócitos humanos lavados; não sendo necessária a hemólise, pois a acetilcolinesterase encontra-se ancorada na membrana celular. Para o ensaio, foi feita uma suspensão das células sanguíneas em tampão fosfato (pH 8,0) na proporção de 1:600 (por exemplo, 10 µL de sangue para 6 mL de tampão) e, exatamente 3,0 mL desta suspensão foram pipetados em uma cubeta. Na sequência, 25 µL de DTNB foram adicionados na cubeta e esta colocada no espectrofotômetro para leitura em 412 nm. Para que a reação fosse iniciada, foi colocado 10 µL de substrato para acetilcolinesterase e as mudanças na leitura da absorbância foram registradas durante 6 minutos.

Porém, em 1983, os autores George & Abernethy aprimoraram o método citado acima para que pudesse ser utilizado em espectrofotômetros de qualidade moderada em laboratórios de rotina. Pois o pico de absorbância do resultado da reação com DTNB coincide com a banda de hemoglobina em 410 nm, levando a baixa precisão

do teste e se restringindo a laboratórios com equipamentos de alta relação sinal-ruído.

Apesar do referido método já ter sido revisado, foi necessário investigar os possíveis motivos que causam dispersão entre os resultados de uma mesma amostra. Para isto, foi preparado um lavado de sangue com tampão fosfato (pH 7,2) na proporção 1:10. Deste, 2,5 μL foram adicionados a um tubo de ensaio contendo tampão fosfato (pH 8,0) com DTNB e, em seguida, adicionou-se 50 μL do substrato de acetilcolina para dar início à reação.

Devido a sensibilidade da enzima, algumas condições específicas foram propostas: (a) temperatura de 25°C e 37°C, (b) incubação em 2,5 e 10 minutos, (c) amostra diluída na proporção 1:2, (d) amostra diluída sob agitação, (e) e ainda, leituras das absorbâncias em 405 nm e 436 nm.

As leituras foram feitas a cada 30 segundos, durante dois minutos. E para fins de comparação, foi realizado um teste com a amostra controle conforme as condições iniciais da metodologia.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme os resultados apresentados na figura 1, percebe-se claramente a influência da temperatura nos resultados apresentados, sendo 37°C a temperatura mais apropriada para a determinação da atividade enzimática da acetilcolinesterase, onde os resultados entre as amostras mostraram-se mais homogêneos.

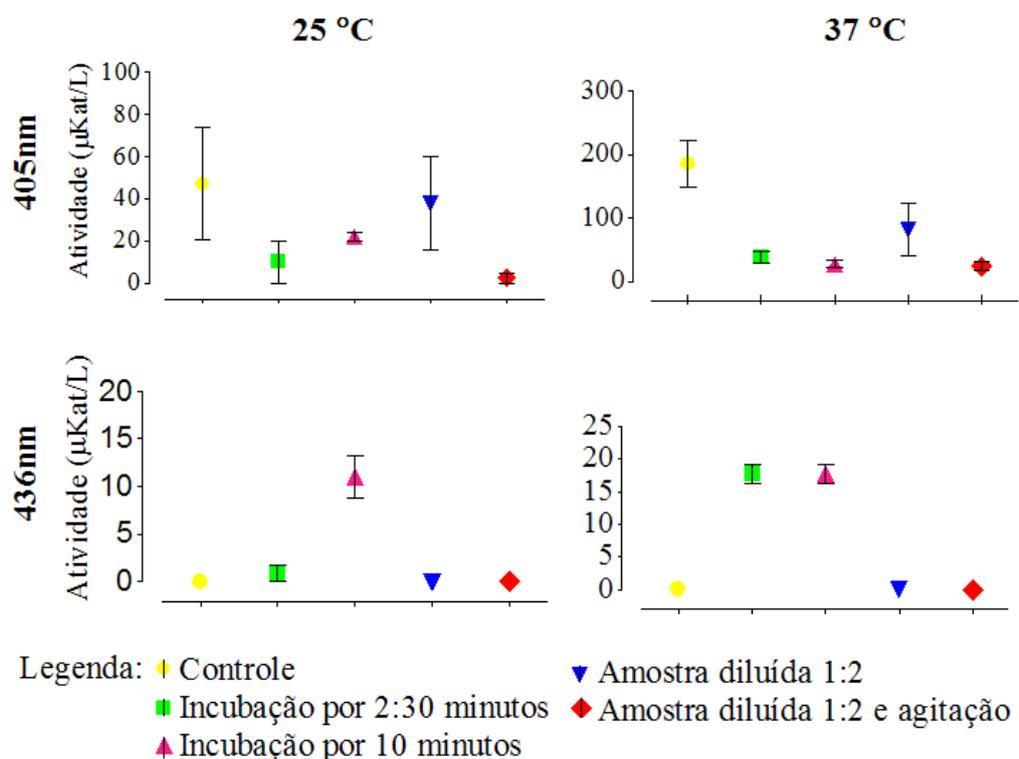


Figura 1 – Atividade da acetilcolinesterase eritrocitária, após diferentes condições de reação.

Os resultados dos testes que foram realizados conforme a metodologia proposta,

porém com a amostra diluída, com a finalidade de minimizar os interferentes, não tiveram grandes mudanças quando comparados com a amostra controle, podendo perceber uma grande variação entre os resultados das triplicatas. Porém, nota-se que, embora com atividade da enzima reduzida nas amostras diluídas, a vigorosa agitação antes do início da reação, levou a menor variação entre as triplicatas.

Observou-se também que, quando a amostra foi submetida a incubação durante 2:30 ou 10 minutos com solução tampão antes do início da reação, a variação entre os resultados das triplicatas da amostra diminuiu. Isso mostrou que, apesar da atividade da acetilcolinesterase variar conforme as diferentes condições estabelecidas para a reação; nas amostras sob agitação e naquelas submetidas a incubação, os valores da atividade enzimática mostraram-se mais homogêneos, conseqüentemente com menor erro padrão.

Provavelmente, a homogeneidade dos resultados das amostras submetidas a incubação deve-se a maior exposição da enzima com a solução tampão, pois sempre que as amostras ficavam em banho-maria, automaticamente elas eram melhor homogeneizadas. Esta condição foi observada pois era necessário verter a solução do tubo de ensaio para a cubeta. A importância do fator agitação pode-se ser confirmada quando comparado com os experimentos realizados anteriormente por Fleuri & Sato (2008) que verificaram a influência da agitação, além do controle do pH e temperatura quando se trabalha com enzimas.

Além disso, foi testado o comprimento de onda de 405 nm conforme metodologia de Ellman adaptada por Georbe & Abernethy (1983) e 436 nm, pois de acordo com Worek et al. (1999), a interferência produzida pela absorção da hemoglobina é diminuída nesta faixa. Confirmou-se que o comprimento de onda interfere diretamente nos resultados. Porém, no presente estudo, o comprimento de onda de 436 nm, na maioria das amostras, incluindo as amostras controles, tiveram as suas atividades reduzidas praticamente a zero conforme mostra a tabela 1, indicando 405 nm como comprimento de onda mais adequado para a leitura das absorbâncias na reação para avaliar a atividade da acetilcolinesterase em eritrócitos.

		25° Celsius					37° Celsius				
		Cont.	I 2,5'	I 10'	D1:2	D1:2 +A	Cont.	I 2,5'	I 10'	D1:2	D1:2 +A
405nm		0,00	30,48	25,40	22,86	7,62	137,16	50,80	22,86	157,48	33,02
		91,44	0,00	17,78	81,28	0,00	259,08	20,32	20,31	71,12	10,16
		50,80	0,00	22,86	10,16	0,00	160,02	43,18	38,10	17,78	27,94
436nm		0,00	0,00	7,62	0,00	0,00	0,00	20,32	15,24	0,00	0,00
		0,00	0,00	15,27	0,00	0,00	0,00	17,78	17,78	0,00	0,00
		0,00	2,54	10,16	0,00	0,00	0,00	15,24	20,32	0,00	0,00

Tabela 1 – Leitura das triplicatas referentes a atividade da acetilcolinesterase eritrocitária expressa em $\mu\text{Kat/L}$, após exposição da enzima em diferentes condições de reação e leitura das absorbâncias nos comprimentos de onda de 405 e 436 nm.

Cont.: Controle; I 2,5': Incubação por dois minutos e trinta segundos; I 10': Incubação por 10 minutos; D1:2:

Amostra diluída na proporção 1:2; D1:2 +A: Amostra diluída na proporção 1:2 e submetidas a agitação.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

As especificações do procedimento a ser seguido é de suma importância para a reprodutibilidade dos ensaios, porque podemos confirmar a interferência dos detalhes nos resultados finais. As amostras que foram melhor homogeneizadas em seu meio de reação durante o preparo, apresentaram menor dispersão entre os resultados das triplicatas. Desta forma, sugerimos a agitação vigorosa da solução antes das leituras das absorbâncias para obtenção de melhores resultados, além da temperatura de 37°C que deve ser controlada durante todo o tempo da reação e as leituras devem ser feitas em espectrofotômetro a 405nm conforme sugerido anteriormente.

REFERÊNCIAS

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES, V.; FEATHERSTONE, R. M. **A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity.** *Biochemical pharmacology*, v. 7, n. 2, p. 88-95, 1961.

FLEURI, L. F.; SATO, H. H. **Estudo da influência de diferentes parâmetros na produção de enzimas líticas.** *Food Science and Technology* (Campinas), 2008.

GEORGE, P. M.; ABERNETHY, M. H. **Improved Ellman procedure for erythrocyte cholinesterase.** *Clinical chemistry*, v. 29, n. 2, p. 365-368, 1983.

GUYTON, Arthur Clifton; HALL, John E.; GUYTON, Arthur C. **Tratado de fisiologia médica.** Elsevier Brasil, 2006.

MASSOULIÉ, J.; PEZZEMENTI, L.; BON, S.; KREJCI, E.; VALLETTE, F. M. **Molecular and cellular biology of cholinesterases.** *Progress in neurobiology*, v. 41, n. 1, p. 31-91, 1993.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. LEHNINGER. **Principles of biochemistry.** Macmillan, 2008.

NORDBERG, A.; SVENSSON, A. **Cholinesterase inhibitors in the treatment of Alzheimer's disease.** *Drug safety*, v. 19, n. 6, p. 465-480, 1998.

ROBERTS J.R. & REIGART R. **Recognition and Management of Pesticide Poisonings.** 6. ed. United States Environmental Protection Agency. Washington. 2013.

SILVA P. **Farmacologia.** 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 131:252, 2010.

WOREK, F.; MAST, U.; KIDERLEN, D.; DIEPOLD, C.; EYER, P. **Improved determination of acetylcholinesterase activity in human whole blood.** *Clinica Chimica Acta*, v. 288, n. 1-2, p. 73-90, 1999.

ZHOU, Y.; WANG, S. & ZHANG, Y. **Catalytic Reaction Mechanism of Acetylcholinesterase Determined by Born – Oppenheimer Ab Initio QM/MM Molecular Dynamics Simulations.** *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 114, n. 26, p. 8817-8825, 2010.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A STABILITY INDICATING HPLC METHOD FOR DETERMINATION OF DAPAGLIFLOZIN IN TABLETS

Rafaela Zielinski Carvalho de Meira

Post-Graduation program in Pharmaceutical Sciences, Department of Pharmacy, UNICENTRO, Guarapuava-PR, Brazil.

Larissa Sakis Bernardi

Post-Graduation program in Pharmaceutical Sciences, Department of Pharmacy, UNICENTRO, Guarapuava-PR, Brazil.

Paulo Renato de Oliveira

Post-Graduation program in Pharmaceutical Sciences, Department of Pharmacy, UNICENTRO, Guarapuava-PR, Brazil.

INTRODUCTION

Dapagliflozin (DAPA) is a highly potent, selective and reversible inhibitor of sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2). Its commercial formula, Farxiga[®], was approved by the FDA in January 2014 and by ANVISA in July 2013. So far, there is no published stability indicating HPLC method for DAPA.

METHODS

The chromatographic conditions were as follows: Synergi Fusion C₁₈ column (150 x 4.6 mm) maintained at 30 °C, injection volume of 20 µL, flow rate of 1.0 mL/min, running time of 10 min, mobile phase composed of acetonitrile and water acidified with 0.1% formic acid (42:58, v/v) and detection at 245 nm. Reference sample

solution was submitted to forced degradation in acid media, basic, oxidative, heat, and photolytic.

RESULTS AND DISCUSSION

Degradation products and significant reduction of active area could be observed after exposure to UV light and daylight. The excipients did not show any interference in the analysis. The developed method was linear in the range of 1 to 100 µg/mL ($r^2=0.9997$). In repeatability and between-analysts precision studies, DAPA showed RSD values lower than 5%. The method demonstrated to be accurate within the range of interest, showing a mean recovery of 81.66, 100.47 and 119.35%. The limit of detection and quantitation were 0.09 and 0.28 µg/mL, respectively. The method was robust across the randomized variations ($p>0.05$). The analysis of tablets containing 5 and 10 mg of DAPA resulted in an assay of 99.47 and 101.33%, respectively.

CONCLUSIONS

Stress studies revealed that drug was most susceptible to photolytic degradation, revealing new degradation products, whose analysis is underway to their identification. The methodology was validated, and was successfully applied for the quantitative analysis of dapagliflozin in pharmaceutical formulations.

O EMPREGO DA CROMATOLOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE) NA DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS PARA RASTREAMENTO DE DOENÇAS

Irthylla Nayalle da Silva Muniz

Centro Universitário Tabosa de Almeida
(Asces-Unita)
Caruaru - Pernambuco

Alane Alexandra da Silva Oliveira

Centro Universitário Tabosa de Almeida
(Asces-Unita)
Caruaru - Pernambuco

Izabella Cinthia Tôrres Vasconcelos

Centro Universitário Tabosa de Almeida
(Asces-Unita)
Caruaru - Pernambuco

Júlia Samara Ferreira da Silva

Centro Universitário Tabosa de Almeida
(Asces-Unita)
Caruaru - Pernambuco

Layza Fernanda Gomes Bezerra

Centro Universitário Tabosa de Almeida
(Asces-Unita)
Caruaru - Pernambuco

Raíssa Ferreira Soares

Centro Universitário Tabosa de Almeida
(Asces-Unita)
Caruaru - Pernambuco

José Carlos Bernardo da Silva Filho

Centro Universitário Tabosa de Almeida
(Asces-Unita)
Caruaru - Pernambuco

Carlos Eduardo Miranda de Sousa

Centro Universitário Tabosa de Almeida
(Asces-Unita)
Caruaru - Pernambuco

RESUMO: Com o objetivo de conhecer as composições das proteínas tem se utilizado a quantificação de aminoácidos nas áreas de bioquímica e bromatologia. Partindo do pressuposto de que o aminoácido é a unidade estrutural básica das proteínas, se fazem necessárias suas quantificações e qualificações. O processo físico-químico utilizado para esse estudo é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando como detector a fluorescência. Vários são os tipos de cromatografia realizados para o rastreamento de doenças do metabolismo de aminoácidos. Os exemplos mais comuns dessa técnica são a cromatografia de aminoácidos na urina e cromatografia de aminoácidos no plasma. Se houverem alterações de aminoácidos é necessária uma busca de erros inatos do metabolismo e realizar cromatografia em plasma e urina por meio de análise quantitativa (CLAE). Concluímos que os métodos cromatográficos quantitativos foram um grande avanço na área da saúde, incluindo esta técnica para separação, identificação e quantificação de aminoácidos, utilizada para o rastreamento de doenças como a homocistinúria e a tirosenemia, as quais afetam o metabolismo dos aminoácidos metionina e tirosina, respectivamente. Dependendo de fatores como idade e estado nutricional no momento da coleta, podem ser diferentes os

resultados de níveis de aminoácido no sangue.

PALAVRAS-CHAVE: Cromatografia, Aminoácidos, Rastreamento, CLAE.

ABSTRACT: To obtaining knowledge of proteins composition, quantification of amino acids has been used in the areas of biochemistry and bromatology. Considering amino acids are the basic unity structural of proteins, their quantifications ad qualifications are necessary. In this study, the physicochemical process High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was used as fluorescence detector. Several types of chromatography are applied in detection of amino acids metabolic diseases. The most common examples of this technique are amino acids chromatography in urine and plasma. In case of disorders in amino acids levels, it is required a research of metabolism innate errors and a qualitative analysis of chromatography (HPLC) in plasma and urine. We conclude that quantitative chromatography methods were a breakthrough in health area, including this technique of amino acids separation, identification and quantification has been used in tracking of diseases, such as homocystinuria and tyrosinemia, which affect metabolism of amino acids methionine and tyrosine, respectively. Some factors such as age and nutritional status at the moment of sample collecting can modify results of amino acid levels in blood.

KEYWORDS: Chromatography, amino acids, tracking, HPLC.

1 | INTRODUÇÃO

A determinação dos aminoácidos é usada há muito tempo, desde na pesquisa bioquímica, como também na área de ciência de alimentos, mais recentemente, com a intenção de conhecer melhor a composição das proteínas (KIPP, 1996). Os aminoácidos são unidades estruturais básicas das proteínas, a quantificação e a qualificação dos mesmos tornam-se necessárias, sabendo-se que, o fator principal determinante da qualidade da proteína é a sua composição em aminoácidos. Com isso, a determinação dos aminoácidos é um dos primeiros passos na compreensão da estrutura da molécula da proteína, sendo bastante relevante a análise precisa e quantitativa a fim de verificar o valor nutricional das proteínas. (CARREIRA et al., 2002).

A determinação de aminoácidos de início era realizada empregando uma resina sulfonatada de troca iônica, sendo uma técnica cara e a detecção dos aminoácidos era feita por calorimetria, após a reação pós-coluna dos aminoácidos com ninidrina. Posteriormente introduziu-se a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), que possui característica de grande especificidade e é um equipamento mais econômico e versátil que um analisador de aminoácidos de troca iônica. (CARREIRA et al., 2002).

Apesar dos avanços nas técnicas de análise, como equipamentos que com alta seletividade e sensibilidade, além da possibilidade da realização da análise em menos tempo, novos métodos para preparo de amostra não avançaram da mesma forma, sendo fator limitante por se tratar de um processo analítico. (FERREIRA, 2016). A

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), apresenta versatilidade, robustez e capacidade para analisar simultaneamente várias substâncias, com tempo reduzido de análise, com sensibilidade, especificidade e automação (DIAS et al., 2017).

A descoberta de aminoácidos e proteínas biomarcadoras de determinadas doenças e a validação de métodos analíticos têm grande importância, pois contribuem para um diagnóstico rápido e preciso, assim como na descoberta de novos alvos farmacológicos e desenvolvimento de novas opções terapêuticas. Entretanto, a descoberta dos biomarcadores na detecção de doenças e a validação de metodologias são processos demorados e desafiadores (BRINGANS et al., 2017).

2 | METODOLOGIA

Este trabalho foi baseado em pesquisas descritivas bibliográficas, tendo como finalidade, a realização de um estudo retrospectivo através da literatura científica sobre a utilização da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para identificação de doenças. Onde os trabalhos foram selecionados através da base de dados do Scielo, Science Direct, Periódicos Capes e Lilacs, tendo como descritores: CLAE, Aminoácidos, Identificação, Doenças. Tendo como critérios de inclusão artigos originais, revisões de literatura, dissertações e teses escritas na língua inglesa e portuguesa nos anos de 2002 a 2018. Publicações estas que se referiam ao uso e importância da utilização da CLAE para determinadas doenças.

3 | ANÁLISES E DISCUSSÃO

3.1 Amostras biológicas

Uma das amostras biológicas mais utilizadas na detecção de biomarcadores é o plasma (ou soro) sanguíneo, pois informa o estado fisiológico dos tecidos do paciente (BRINGANS et al., 2017). Existem estudos para avaliação através do plasma do aminoácido homocisteína (Hcy). Este aminoácido tem seu nível aumentado em distúrbios genéticos, como no caso da homocistinúria clássica e a acidúria metilmalônica combinada à homocistinúria. Ainda podem ser associadas outras doenças aos altos níveis de Hcy, como doenças (CONCEPCIÓN-ALVAREZ; CAMAYD-VIERA; NUEVAS-PAZ, 2016).

Através de análises do soro sanguíneo, também são detectados outros aminoácidos, a fenilalanina (Phe) e a tirosina (Tyr), para a confirmação de casos de hiperfenilalaninemias, uma desordem metabólica causada por uma mutação no gene que codifica a enzima L-fenilalanina hidroxilase, que é responsável pela conversão da fenilalanina em tirosina (CONTRERAS et al., 2015).

O emprego da urina como uma ferramenta analítica possui diversas vantagens, pelos seguintes fatores: pode ser obtida em grandes quantidades, a coleta não é

invasiva, portanto, facilita a repetição de coletas e monitoramento do paciente. Além disso, a urina é um fluido biológico que, em comparação com o plasma, o preparo da amostra é mais simples, pois não apresenta uma grande quantidade de proteínas, nem efeitos matriciais significativos (KUČEROVÁ et al, 2017).

3.2 Preparação da amostra

Para o preparo de amostras sanguíneas (plasma ou soro) em análises utilizando CLAE, após a coleta e centrifugação de cerca de 2 mL de sangue periférico, retira-se as alíquotas de soro ou plasma. Em seguida, é necessário um pré-tratamento de desproteíntização, que pode ser efetuado utilizando uma solução de ácido tricloroacético a 10% (1: 1, v / v), as amostras são centrifugadas por 10 minutos e o sobrenadante é transferido para um tubo limpo. Posteriormente, são transferidos 100 µL do sobrenadante para um tubo contendo 400 µL de água destilada e esta solução é homogeneizada em um agitador (CONTRERAS et al, 2015).

3.3 Análise cromatográfica (CLAE)

A Cromatografia de Líquidos ou HPLC (High Performance Liquid Chromatography), é um método analítico que propõe separar, identificar e quantificar substâncias presentes sendo em produtos diferentes e baseando-se em suas estruturas e funções moleculares diferenciadas (CHUST, R.B, 1990). A separação na CLAE acontece através de um mecanismo de interação seletiva entre duas fases, uma estacionária e outra móvel e as moléculas do soluto (amostra). (PENEDO, 2016).

A fase estacionária é a coluna cromatográfica, ou seja, um cilindro rígido (normalmente de aço ou vidro). A fase móvel ou solvente flui de maneira contínua através do sistema, arrastando a amostra injetada pela coluna e pelo detector. As substâncias da amostra devido a fatores como estrutura molecular e grupos funcionais obterão distintos graus de afinidade com a fase móvel e estacionária assim sua velocidade de migração permitindo assim ocorrer a separação cromatográfica. Portanto, a substância de maior afinidade com a fase estacionária, será retida na coluna por maior período de tempo, e a de menor afinidade, evoluindo mais rapidamente pela coluna (PENEDO, 2016).

3.4 Interpretação dos resultados

Para a interpretação dos dados cromatográfico devem ser seguidos alguns parâmetros para que o resultado seja satisfatório para a análise, em que os picos apresentem boa separação e sejam simétricos. Logo, o resultado em forma de gráfico será satisfatório. Alguns fatores vão influenciar na interpretação dos cromatogramas como tempo de retenção, tempo morto, largura do pico, coeficiente de distribuição, fator de separação, resolução, número de pratos teóricos, fator de simetria, desvio padrão relativo (COLLINS, et al.,2006).

4 | CONCLUSÃO

Fatores como idade e estado nutricional que se encontra o paciente pode influenciar nos resultados a nível de aminoácido, onde os métodos cromatográficos permitem uma melhor quantificação desses valores, já que possui técnicas para separação, identificação e qualificação dos mesmos, permitindo assim um rastreamento de doenças como a homocistinúria e a tirosenemia, já que estas afetam o metabolismo dos aminoácidos.

REFERÊNCIAS

BRINGANS, Scott D. et al. **Comprehensive mass spectrometry based biomarker discovery and validation platform as applied to diabetic kidney disease.** *EuPA Open Proteomics*, v. 14, p. 1-10, 2017.

CARREIRA, Raquel Linhares. et al. **Emprego da cromatografia líquida de alta eficiência hidrofílica na determinação dos aminoácidos de hidrolisados de caseína.** *Ciênc Tecnol Aliment*, v. 22, n. 3, p. 229-32, 2002.

COLLINS, H. C. et al. **Fundamentos de Cromatografia**, Editora Unicamp, 2006.

CONCEPCIÓN-ALVAREZ, Alina. et al. **Validation of an HPLC method for total homocysteine quantification in plasma.** *Revista del Laboratorio Clínico*, v. 9, n. 2, p. 40-47, 2016.

CONTRERAS, Jiovanna. et al. **HPLC for Confirmatory Diagnosis and Biochemical Monitoring of Cuban Patients with Hyperphenylalaninemias.** *MEDICC review*, v. 17, p. 23-28, 2015.

CHUST, Rafael Berbert. **Introdução à Cromatografia de Líquidos (HPLC).** *Boletim SPQ*, v. 39, p. 43-53, 1990.

DIAS, Sabrina Da Silva. et al. **Obtenção de padrão analítico de retinol a partir de fígado bovino por cromatografia líquida de alta eficiência.** *Semioses*, v. 11, n. 3, p. 38-42, 2017.

FERREIRA, Thais Paes. et al. **Estudo comparativo de métodos de extração para determinação de fluazuron em plasma bovino por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção em ultravioleta.** 2016.

KIPP, B. et al. **Comparative Studies of HighMrSubunits of Rye and Wheat. I. Isolation and Biochemical Characterisation and Effects on Gluten Extensibility.** *Journal of cereal science*, v. 23, n. 3, p. 227-234, 1996.

KUČEROVÁ, Kateřina. et al. **Could urinary retinol be used as a new biomarker of kidney damage?.** *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 95, p. 57-61, 2017.

PENEDO, Diretora do Laboratório de Ensaios. **Validação de métodos analíticos para controle de qualidade de um medicamento, por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).** 2016. Tese de Doutorado. Universidade Nova de Lisboa.

EFICIÊNCIA DA MICROENCAPSULAÇÃO DE PROBIÓTICOS ATRAVÉS DA TÉCNICA DE *SPRAY DRYING*

Rosane Vaniski

Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPR
Medianeira – PR

Cristiane Canan

Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPR
Medianeira – PR

Deisy Alessandra Drunkler

Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPR
Medianeira – PR

RESUMO: Os consumidores estão cada vez mais preocupados em ingerir alimentos que além da nutrição propiciem benefícios à saúde. Neste sentido tem se destacado o emprego de micro-organismos probióticos, que podem ser definidos como àqueles que quando ingeridos em determinadas concentrações e diariamente podem promover diversos efeitos benéficos à saúde de quem os consome desde que se apresentem viáveis no alimento, durante processamento e armazenamento, e na passagem pelo trato digestório humano, o que torna este um desafio para a indústria ao elaborar alimentos contendo esses micro-organismos. Um método empregado para manter a viabilidade dos probióticos frente às condições adversas é a microencapsulação, sendo diversas as técnicas

que podem ser utilizadas nesse processo, bem como os materiais empregados. Uma técnica frequentemente utilizada é a secagem por *spray drying* devido as vantagens que apresenta, tais como baixo custo, ser uma técnica acessível e pode ser produzida em escala industrial. Entretanto, para obter-se uma boa eficiência da microencapsulação alguns fatores devem ser avaliados. Desta forma, esta revisão tem como objetivo relatar os principais fatores que interferem na eficiência da microencapsulação de probióticos ao utilizar a técnica de secagem por *spray drying*.

PALAVRAS-CHAVE: Viabilidade; Microcápsulas; Temperatura.

ABSTRACT: Consumers are increasingly concerned about eating foods that in addition to nutrition provide health benefits. In this sense, the use of probiotic microorganisms, which can be defined as those that when ingested in certain concentrations and daily can promote several beneficial effects to the health of those who consume them as long as they are viable in the food during processing and storage, and in the passage through the human digestive tract, which makes this a challenge for the industry when preparing foods containing these microorganisms. One method used to maintain the viability of probiotics against adverse conditions is microencapsulation, with

several techniques that can be used in this process, as well as the materials used. One technique often used is *spray drying* due to the advantages it presents, such as low cost, be an affordable technique and can be produced on an industrial scale. However, for microencapsulation to have a good efficiency some factors must be evaluated. Thus, this review aims to report the main factors that interfere with the efficiency of microencapsulation of probiotics when using the *spray drying* technique.

KEYWORDS: Viability; Microcapsules; Temperature.

1 | INTRODUÇÃO

Os alimentos funcionais vêm desempenhando um papel importante no segmento de alimentos devido às suas propriedades funcionais (TRIPATHI; GIRI, 2014). Para isso, a indústria alimentícia e os profissionais de saúde estão empenhados em desenvolver e aprimorar processos, em que os alimentos com apelo funcional possam ser controlados de forma mais eficaz para promover nutrição, saúde e bem estar para quem os consome (SILVA et al., 2018).

A evolução nas pesquisas está associada às mudanças nos hábitos alimentares dos consumidores, que procuram cada vez mais por alimentos que além de nutrir tragam outros benefícios ao organismo, o que justifica a crescente busca por alimentos que contenham probióticos, que podem ser definidos como micro-organismos vivos que conferem benefícios para o hospedeiro, se administrados em quantidades adequadas (FAO / WHO, 2006).

Ao serem ingeridos, os probióticos colonizam o trato intestinal, promovem redução da proliferação de bactérias patogênicas pela multiplicação das bactérias benéficas, as quais reforçam os mecanismos de defesa (SAAD, 2006) previnem infecções gastrointestinais, diarreia e doença inflamatória intestinal (ARSLAN et al., 2015), além de manter a integridade da mucosa e produzir importantes enzimas (HOLZAPFEL; SCHILLINGER, 2002).

Outros benefícios podem ser associados aos micro-organismos probióticos, como a ação *anticolesterolêmica* (MARTIN et al., 2015), diminuição de lipídios séricos e melhorado sistema imunológico (SONG et al., 2013), efeitos anticarcinogênico, anti-bacteriano e antimutagênico (TRIPATHI; GIRI, 2014), capacidade de melhorar os efeitos da intolerância a lactose (ALMEIDA et al., 2012; SONG et al., 2013), dos efeitos adversos aos antibióticos e tratamento e prevenção de doenças alérgicas (ISOLAURI; RAUTAVA; SALMINEN, 2012).

Mas para oferecer benefícios à saúde, os probióticos devem ser ingeridos em quantidade adequada. No Brasil, a legislação estabelece a apresentação de laudo de análise que comprove a quantidade mínima viável do micro-organismo para exercer a propriedade funcional no final do prazo de validade do produto e nas condições de uso, armazenamento e distribuição (BRASIL, 2016).

Entretanto, um dos maiores desafios para a indústria de alimentos funcionais

adicionados de probióticos é manter o número adequado de bactérias viáveis, capazes de suportar as condições ácidas do estômago e os sucos biliares do intestino delgado (KENT; DOHERTY, 2014), além de garantir a viabilidade durante o processamento e armazenamento do alimento até seu prazo de validade (PINTO et al., 2015).

Um dos métodos utilizados para manter a viabilidade dos probióticos é a microencapsulação, que consiste em envolver diversos materiais, sejam eles, sólidos, líquidos ou gasosos em pequenas cápsulas, que liberam seu conteúdo sob condições controladas, mantendo assim, a estabilidade desses micro-organismos durante o processamento e estocagem dos alimentos, além de elevar sua resistência ao passar pelo trato digestório (VANISKI; CORTI; DRUNKLER, 2017).

Entretanto, para alcançar os objetivos propostos pela microencapsulação, são necessários alguns conhecimentos prévios, como o processo de microencapsulação a ser utilizado, as propriedades dos materiais encapsulantes e as características do produto a ser obtido (NAZZARO et al., 2012).

Um dos resultados esperados na microencapsulação de probióticos é a obtenção de uma boa eficiência de encapsulação, que visa obter o máximo de micro-organismos viáveis após o processo. Para isso, alguns fatores devem ser avaliados e ponderados. Desta forma, esta revisão tem como objetivo avaliar os principais fatores que interferem na eficiência da microencapsulação de probióticos utilizando da técnica de *spray drying* através de revisão da literatura.

2 | FATORES QUE INTERFEREM NA EFICIÊNCIA DA MICROENCAPSULAÇÃO POR *SPRAY DRYING*

Muitos são os métodos utilizados no processo de microencapsulação de probióticos e podem ser divididos em métodos químicos, físicos e físico-químicos. Sua escolha vai depender de fatores como a aplicação que será dada a microcápsula e o tamanho desejado, do mecanismo de liberação e das propriedades físico-químicas, tanto do material ativo quanto do agente encapsulante (COOK et al., 2012; ASSUNÇÃO et al., 2014).

Uma das técnicas mais frequentemente utilizadas na indústria de alimentos é a secagem por *spray drying* (MARTÍN et al., 2015). Essa técnica produz pós com partículas de dimensões de escala micrométrica, o que permite sua adição em uma vasta gama de alimentos, apresenta baixo custo, equipamento e técnica acessível, pode ser produzida em escala industrial, além de que apresenta solubilização instantânea e maior estabilidade das cápsulas (MARTÍN et al., 2015; KENT; DOHERTY, 2014; SILVA et al., 2014).

O processo envolve a dispersão dos materiais encapsulantes e o material a ser encapsulado, que são atomizados para dentro de uma câmara de secagem com circulação de ar quente, ocorrendo a evaporação do solvente e a formação de um pó

seco, onde o material de parede encapsula o núcleo (MARTÍN et al., 2015; SILVA et al., 2014).

A secagem por pulverização é um método bastante empregado na encapsulação de probióticos. Guerin et al. (2017) microencapsularam *L. rhamnosus* GG através de secagem por pulverização, utilizando proteínas do leite. Maciel et al. (2014) utilizaram esta técnica ao microencapsular *L. acidophilus* La-5 com soro de leite doce e leite desnatado como materiais de encapsulação. Zhang, Lin e Zhong (2016) também utilizaram a técnica de *spray drying* para microencapsular *L. salivarius* NRRL B-30514.

O esquema de secagem por *spray drying* está demonstrado na Figura 1.

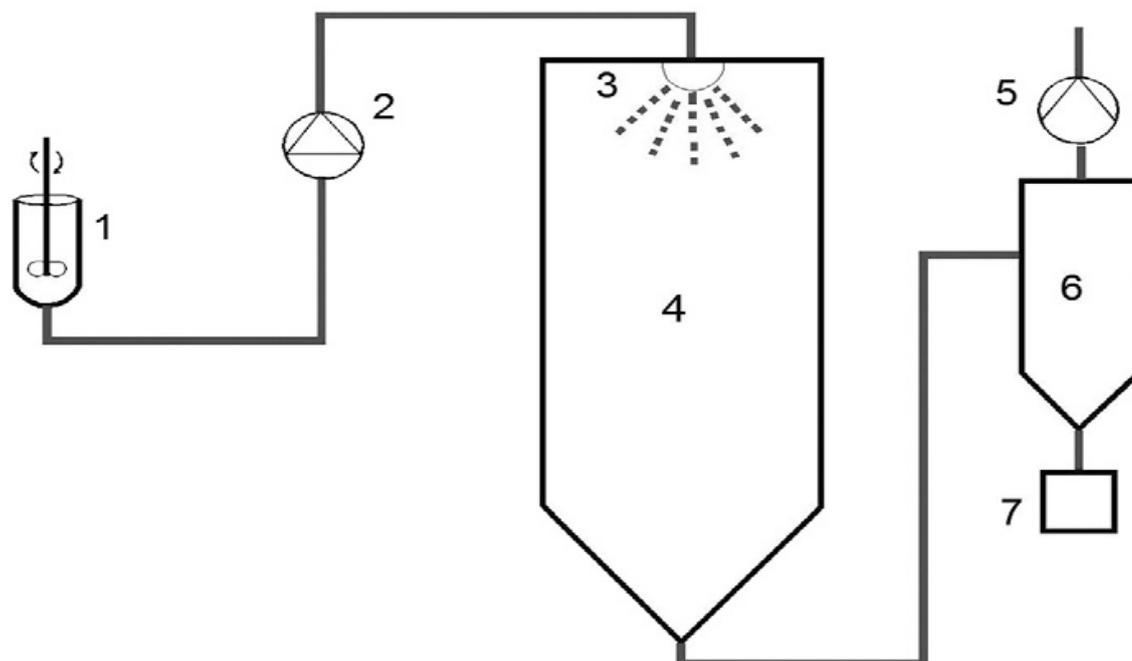


Figura 1 - Tecnologia de secagem por *Spray drying*. 1- Alimentação, 2- Bomba de alimentação, 3- Bico de alimentação, 4- Câmara de secagem, 5- Sucção, 6- Ciclone, 7- Obtenção microcápsulas.

Fonte: Martín et al. (2015).

Vários são os fatores que podem interferir na eficiência da microencapsulação empregando a técnica de *spray drying*, dentre eles a temperatura do ar de secagem de entrada e da saída, a vazão de entrada na câmara de secagem, o tempo de exposição e o material de parede empregado (MARTÍN et al., 2015).

3 | TEMPERATURA DO AR DE SECAGEM DE ENTRADA E DE SAÍDA

A qualidade dos produtos obtidos através da secagem por *spray drying* vai depender das condições de processo empregadas, que podem ser consideradas adequadas quando se obtém, como produto final, partículas que não tenham sofrido expansão e fissuras em sua estrutura, e que mantenham uma boa eficiência de encapsulação (CARMO; FERNANDES; BORGES, 2015).

A temperatura do ar de entrada vai variar de acordo com os materiais de parede utilizados no processo de encapsulação e principalmente do material a ser encapsulado. A secagem por *spray drying* é um método comumente empregado na microencapsulação de probióticos, sendo que as temperaturas utilizadas normalmente variam entre 150 e 220 °C, promovendo a evaporação instantânea do solvente, e em seguida a temperatura decresce para valores moderados (50 a 80 °C) (NUNES et al., 2015).

De acordo com a temperatura empregada, ocorre a rápida formação de uma membrana semipermeável na superfície das gotas; se essa temperatura for baixa, a taxa de evaporação será mais lenta levando à formação de microcápsulas com membranas de alta densidade, alto teor de umidade, diminuição da fluidez do pó e facilidade de aglomeração (CARMO; FERNANDES; BORGES, 2015).

Por outro lado, altas temperaturas podem causar danos pelo calor ao produto seco e imperfeições na superfície (JAFARI et al., 2008), como fissuras ou rupturas, o que pode diminuir a proteção aos micro-organismos e elevar a permeabilidade de gases (TANG; LI, 2013).

A viscosidade da solução influencia na sua capacidade de ser atomizada de forma homogênea; quando se eleva o valor da temperatura, a viscosidade e o tamanho das gotículas podem ser reduzidas (CARMO; FERNANDES; BORGES, 2015). Por outro lado, altas temperaturas podem causar volatilização ou degradação de componentes termossensíveis. A temperatura de saída do ar no *spray drying*, obtida sob determinadas condições, pode ser considerada como um índice de controle do secador (GHARSALLAOUI et al., 2007).

A temperatura interfere também na umidade, higroscopicidade e atividade de água (Aa) das microcápsulas. Com o aumento da temperatura de secagem, tende-se a obter microcápsulas com valores menores de Aa e umidade, que tendem a apresentar maior estabilidade. Segundo Tonon, Brabet e Hubinger (2008) os valores de Aa para as microcápsulas após secagem devem estar próximos a 0,3 para manter a estabilidade do material encapsulado, já que uma menor quantidade de água livre estará disponível para reações bioquímicas e para o desenvolvimento da microbiota bacteriana contaminante.

Já as microcápsulas com menor teor de umidade apresentam boa estabilidade durante o armazenamento, uma vez que segundo Gandhi et al. (2012) as microcápsulas devem apresentar em torno de 4 e 5 g.100g⁻¹ de umidade para manter a estabilidade durante o armazenamento e para a prevenção da aglomeração ou processo de recristalização.

De acordo com Santos (2013), a temperatura de secagem tem efeito significativo sobre as propriedades finais do pó, onde a redução da temperatura leva a obtenção de partículas menos higroscópicas.

Fritzen-Freire et al. (2013) relataram que as temperaturas de entrada e saída são uma das causas mais importantes de estresse bacteriano e de mortalidade durante o

processo de secagem por *spray drying*.

O aumento da temperatura de secagem apresenta efeito negativo sobre a eficiência da microencapsulação, ou seja, com o aumento da temperatura do ar de secagem há uma diminuição do número de células viáveis no produto obtido. Isso ocorre devido ao aumento da temperatura que as gotículas são submetidas e ao tempo que ficam expostas a essa temperatura (PISPAN; HEWITT; STAPLEY, 2013). Portanto, as perdas de viabilidade durante o processo de secagem por pulverização podem ocorrer devido a desidratação e altas temperaturas, estes dois mecanismos, ocorrendo ao mesmo tempo, podem apresentar efeito negativo na viabilidade (ARSLAN et al., 2015).

Diferentes resultados foram relatados em estudos que avaliaram a secagem por *spray drying*. Bustamante et al. (2015) avaliaram a sobrevivência de *L. acidophilus* La-5 encapsulado em mucilagem de linhaça, em temperatura mínima de 110°C e máxima de 140°C e observaram que nos tratamentos realizados a 110°C a eficiência foi maior, chegando a 78,43%, já a 140°C a eficiência máxima foi de 63,30%. Fritzen-Freire et al. (2013) ao encapsular *Bifidobacterium lactis* BB-12, utilizando como material de parede leite desnatado reconstituído e prebióticos, a uma temperatura de entrada de 150 °C ± 2°C e de saída de 55°C ± 3°C, observaram eficiências variando entre 70,58 e 75,68%. Liu et al. (2016) ao otimizar a microencapsulação de *L. reuteri*, com temperatura de entrada de 140°C e temperatura de saída de 90°C, e concentração de leite desnatado de 20% a uma velocidade de alimentação de 1200 mL.h⁻¹, observaram que a sobrevivência média foi de 72,50%. Vaniski et al. (2016), ao microencapsular *Lactobacillus acidophilus*, utilizando proteína extraída do farelo de arroz e maltodextrina como agentes encapsulantes, observaram que o tratamento que empregou maior temperatura de entrada de secagem, 100°C, foi o de menor eficiência (79,5%), já ao utilizar menor temperatura de secagem e maior vazão de entrada (76°C e 0,60 L.h⁻¹), obteve-se uma eficiência de 89,9%.

4 | VAZÃO DE ENTRADA

A vazão de entrada da solução contendo o material de parede e o material a ser encapsulado, denominado núcleo, também é um dos fatores que interferem na eficiência da microencapsulação. Estudos relatam que com o aumento da vazão há um aumento da eficiência, isso se deve ao menor tempo de contato do probiótico com o ar quente de secagem.

Behboudi-Jobbehdar et al. (2013) observaram, ao encapsular *L. acidophilus* utilizando temperatura de entrada do ar 120 a 160°C e vazão de entrada de 6,0 a 9,0 mL/min, que com temperatura mais elevada houve uma redução de 9,02 para 7,20 log UFC/g. Por outro lado, com aumento na taxa de fluxo de alimentação, houve uma redução na perda de viabilidade induzida pelo calor.

Fu e Chen (2011) relataram que a redução de células viáveis durante a etapa

de atomização pode ser atribuída à escolha do meio de secagem adequado, assim como ao elevado teor de água da solução de alimentação no *spray drying* e ao tempo de residência na câmara de secagem, ou seja, a vazão de entrada no equipamento. Assim sendo, o efeito combinado desses três fatores poderiam proteger as células bacterianas de serem aquecidas até uma temperatura que levasse a morte do micro-organismo e, assim, resultar em uma boa eficiência de encapsulamento.

Behboudi-Jobbehdar et al. (2013) observaram que ao encapsular *L. acidophilus* utilizando maltodextrina, concentrado protéico de soro de leite e D-glucose como materiais de parede e secagem por *spray drying*, o aumento da temperatura de entrada de ar induziu uma redução significativa da viabilidade do *L. acidophilus*, mas associada ao aumento da vazão de alimentação aumentaram a sobrevivência do micro-organismo.

5 | MATERIAIS ENCAPSULANTES

A escolha dos materiais de parede é importante para a eficiência da encapsulação e a estabilidade das microcápsulas. Os materiais encapsulantes podem ser de origem natural, semi-sintética e sintética, onde destacam-se os carboidratos, proteínas e lipídios (TRIPATHI; GIRI, 2014; ESTEVINHO et al., 2013).

A escolha do material adequado depende de diversos fatores como a não reatividade com o material a ser encapsulado durante o processo e estocagem; o processo utilizado para a formação da microcápsula; o mecanismo e liberação do material encapsulado; suas propriedades reológicas; a habilidade de dispersar ou emulsificar; a capacidade de prover máxima proteção para o material a ser encapsulado contra condições desfavoráveis; o tamanho da microcápsula; e ser economicamente viável (ESTEVINHO et al., 2013; ASSUNÇÃO et al., 2014).

Os carboidratos são os materiais mais frequentemente utilizados na microencapsulação de probióticos (ROKKA; RANTAMÄKI, 2010), entretanto, as proteínas e os lipídios vêm se destacando no processo de microencapsulação (TRIPATHI; GIRI, 2014). Uma prática comum consiste em misturar dois ou mais agentes encapsulantes para melhorar as propriedades de processo e eficiência da microencapsulação. Koç et al. (2015), destacam a mistura de carboidratos e proteínas. Podemos citar como exemplo a associação da maltodextrina que possui alta capacidade de secagem (ANEKELLA; ORSAT, 2013) que associada as proteínas que apresentam maior ação emulsionante (KOÇ et al., 2015), melhor distribuição de gel e propriedades de formação de película (WANG; TIAN; CHEN, 2011) tem-se maior eficiência da microencapsulação.

As proteínas vegetais também vêm se destacando no processo de microencapsulação, em razão do baixo custo e das propriedades nutricionais e tecnológicas dessas proteínas, apresentando-se como um material de parede altamente adequado (NESTERENKO et al., 2013).

Diversas são as proteínas vegetais que podem ser utilizadas como materiais de parede, também as proteínas extraídas de sementes e mais recentemente do farelo de arroz. Vaniski et al. (2016), ao microencapsular *L. acidophilus*, utilizando proteína extraída do farelo de arroz associada à maltodextrina como materiais de parede obtiveram alta eficiência de encapsulação.

O uso de proteína como agente encapsulante de probióticos proporciona vantagens, como a formação de revestimento de proteção sobre a parede celular bacteriana e a substituição parcial dos sítios de moléculas de água em células durante a secagem, isso ajuda na prevenção da ruptura da membrana celular durante o processo de secagem por pulverização (RAJAM; ANANDHARAMAKRISHNAN, 2015).

Maciel (2013) ao microencapsular *L. acidophilus* através da secagem por *spray drying*, obteve eficiência de 82,3% utilizando soro de leite como material de parede, e ao utilizar leite desnatado obteve eficiência de 79,85%. Xing et al. (2014) observaram eficiência de encapsulação de *L. acidophilus* com amido poroso de 61,2%.

Certos materiais podem ser incorporados na matriz polimérica para melhorar a viabilidade das células microbianas durante secagem por pulverização. Alguns materiais atuam como um termoprotetor para as células microbianas, por promoverem maior sobrevivência durante o processo de encapsulamento por pulverização (FRITZEN-FREIRE et al., 2012).

Desmond et al. (2002), ao microencapsular *L. paracasei* NFBC 338 utilizando leite desnatado reconstituído (10% m/v) e goma-arábica (10% m/v) através da secagem por *spray drying* com temperatura de saída de 95 a 105°C, observaram que a cultura microencapsulada com goma-arábica apresentou uma sobrevivência dez vezes maior que as células controle, igualmente apresentaram maior sobrevivência durante o armazenamento a 4-30°C durante 4 semanas.

Fritzen-Freire et al. (2013) ao encapsular *Bifidobacterium lactis* BB-12, através da secagem por *spray drying* e utilizar como material de parede, leite desnatado reconstituído (LDR) apresentou eficiência de 71,72%, ao utilizar LDR e inulina, a eficiência foi de 75,37%, já ao utilizar LDR, oligofrutose e inulina a eficiência foi de 75,68, e ao utilizar como materiais de parede LDR e oligofrutose apresentou 70,58% de eficiência.

Outro fator a ser considerado para a qualidade do pó obtido e eficiência da microencapsulação é a característica da solução a ser atomizada. A concentração de sólidos totais, viscosidade, estabilidade e tamanho da gotícula, alta concentração de sólidos na solução aumenta a retenção principalmente por reduzir o tempo requerido para formar uma membrana semipermeável na superfície da partícula (JAFARI et al., 2008).

Além dos fatores acima, a cepa do micro-organismo pode interferir na eficiência da microencapsulação, bem como sua sobrevivência durante o armazenamento (DESMOND et al., 2002).

Fávaro-Trindade e Grosso (2002) avaliaram a sobrevivência dos probióticos

Bifidobacterium lactis (Bb-12) e *L. acidophilus* (La-05) após a secagem por *spray drying* a uma temperatura do ar de entrada de 130°C e temperatura de saída de 75°C, e observaram que o número de células viáveis de *B. lactis* permaneceu praticamente inalterado, enquanto que a população de *L. acidophilus* foi reduzida em dois ciclos logarítmicos.

CONCLUSÃO

A secagem por *spray drying* é uma técnica muito utilizada por concentrar em suas características diversas vantagens, dentre as quais destacam-se a alta eficiência da microencapsulação de micro-organismos probióticos e viabilidade da técnica. Entretanto, diversos parâmetros devem ser avaliados para selecionar as melhores condições de processo, as quais variam de acordo com o produto que se deseja obter e sua finalidade. Desta forma, é fundamental conhecer o material a ser encapsulado, neste caso o microrganismo, e os materiais encapsulantes que devem ser selecionados segundo as características desejáveis das microcápsulas e aplicação a que se destina.

REFERENCIAS

- ALMEIDA, C. C.; LORENA, S. L. S.; PAVAN, C. R.; AKASAKA, H. M. I.; MESQUITA, M. A. **Beneficial Effects of Long-Term Consumption of a Probiotic Combination of *Lactobacillus casei shirota* and *Bifidobacterium breve yakult* May Persist After Suspension of Therapy in Lactose-Intolerant Patients.** Nutrition in Clinical Practice, v. 27, n. 2, p. 247-251, 2012.
- ANEKELLA, K.; ORSAT, V. **Optimization of Microencapsulation of Probiotics in Raspberry Juice by *Spray Drying*.** LWT-Food Science and Technology, v. 50, n. 1, p. 17-24, 2013.
- ARSLAN, S.; ERBAS, M.; TONTUL, I.; TOPUZ, A. **Microencapsulation of Probiotic *Saccharomyces cerevisiae* Var . *boulardii* with Different Wall Materials by *Spray Drying*.** LWT-Food Science and Technology, v. 63, n. 1, p. 685-690, 2015.
- ASSUNÇÃO, L. S.; FERREIRA, C. D.; CONCEIÇÃO, E. J. L. da; NUNES, I. L. **Estudo Prospectivo sobre Encapsulamento de Compostos Bioativos.** Revista Geintec - Gestão, Inovação e Tecnologias, v. 4, n. 4, p. 1382-91, 2014.
- BEHBOUDI-JOBBEHDAR, S.; SOUKOULIS, C.; YONEKURA, L.; FISK, I. **Optimization of Process Conditions for the Production of Maximally Viable Microencapsulated *Spray Drying L. acidophilus* NCIMB 701748.** Drying Technology: Na International Journal, v. 31, n. 11, p. 1274-1283, 2013.
- BRASIL. **IX-Lista de Alegações de Propriedade Funcional Aprovadas 2016. Dispoes dos Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos, Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos.** 22 dez. 2016. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>>. Acesso em: 14 fev. 2017.
- BUSTAMANTE, M; VILLARROEL, M; RUBILAR, M; SHENE, C. ***Lactobacillus acidophilus***

La-05 Encapsulated by *Spray Drying*: Effect of Mucilage and Protein from Flaxseed (*Linum Usitatissimum* L.). LWT-Food Science and Technology, v. 62, n. 2, p. 1162–68, 2015.

CARMO, E. L.; FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V. **Microencapsulação por *Spray Drying*, Novos Biopolímeros e Aplicações na Tecnologia de Alimentos.** Journal of Chemical Engineering and Chemistry, v. 01, n. 02, p. 030–044, 2015.

COOK, M. T.; TZORTZIS, G.; CHARALAMPOPOULOS, D.; KHUTORYANSKIY, V. V. **Microencapsulation of Probiotics for Gastrointestinal Delivery.** Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society, v. 162, n. 1, p. 56-67, 2012.

DESMOND, C.; ROSS, R. P.; O'CALLAGHAN, E.; FITZGERALD, G.; STANTON, C. **Improved survival of *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 in *spray-dried* powders containing gum acacia.** Journal of Applied Microbiology, v. 93, n. 6, p. 1003–1011, 2002.

ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F.; SANTOS, L.; ALVES, A. **Microencapsulation with Chitosan by *Spray Drying* for Industry Applications – A Review.** Trends in Food Science & Technology, v. 31, n. 2, p. 138–55, 2013.

FAO/WHO. **Probióticos em los alimentos.** Propiedades saludables y nutricionales y directrices para La evaluación: Estudio FAO Alimentación y Nutrición, Roma, 2006. 45 p. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-a0512s.pdf>> Acesso 16 abr. 2018.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. **Microencapsulation of *L. acidophilus* (La-05) and *B. lactis* (Bb-12) and evaluation of their survival at the pH values of the stomach and in bile.** Journal of Microencapsulation, v. 19, n. 4, p. 485–494, 2002.

FRITZEN-FREIRE, C. B.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D. M. C.; PINTO, S. S.; NEGRÃO-MURAKAMI, A. N.; MURAKAMI, F. S. **Microencapsulation of Bifidobacteria by *Spray Drying* in the Presence of Prebiotics.** Food Research International, v. 45, n. 1, p. 306-12, 2012.

FRITZEN-FREIRE, C. B.; PRUDÊNCIO, E. S.; PINTO, S. S. MUÑOZ, I. B.; AMBONI, R. D. M. C. **Effect of Microencapsulation on Survival of *Bifidobacterium* BB-12 Exposed to Simulated Gastrointestinal Conditions and Heat Treatments.** LWT-Food Science and Technology, v. 50, n. 1, p. 39-44, 2013.

FU, N.; CHEN, X. D. **Towards a maximal cell survival in convective thermal drying processes.** Food Research International, v. 44, p. 1127-1149, 2011.

GHANDI, A.; POWELL, I. B.; CHEN, X. D.; ADHIKARI, B. **The Effect of Dryer Inlet and Outlet Air Temperatures and Protectant Solids on the Survival of *Lactococcus lactis* during *Spray Drying*.** Drying Technology, v. 30, n. 14, p. 1649-1657, 2012.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDOUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. **Applications of *spray-drying* in microencapsulation of food ingredients: An overview.** Food Research International, Barking, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.

GUERIN, J.; PETIT, J.; BURGAIN, J.; BORGES, F.; BHANDARI, B.; PERROUD, C.; DESOBRY, S.; SCHER, J.; GAIANI, C. ***Lactobacillus rhamnosus* GG Encapsulation by *Spray-Drying* : Milk Proteins Clotting Control to Produce Innovative Matrices.** Journal of Food Engineering, v. 193, p. 10–19, 2017.

- HOLZAPFEL, W. H.; SCHILLINGER, U. **Introduction to pre-and probiotics**. Food Research International, v. 35, n. 2–3, p. 109–116, 2002.
- ISOLAURI, E.; RAUTAVA, S.; SALMINEN, S. **Probiotics in the Development and Treatment of Allergic Disease**. Gastroenterology clinics of North America, v. 41, n. 4, p. 747-62, 2012.
- JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; HE, Y.; BHANDARI, B. **Encapsulation efficiency of food flavours and oils during *spray drying***. Drying Technology, Abingdon, UK, v. 26, n.7, p. 816-835, 2008.
- KENT, R. M.; DOHERTY, S. B. **Probiotic Bacteria in Infant Formula and Follow-up Formula: Microencapsulation Using Milk and Pea Proteins to Improve Microbiological Quality**. Food Research International, v. 64, p. 567-76, 2014.
- KOÇ, M.; GÜNGÖR, O.; ZUNGUR, A.; YALÇIN, B.; SELEK, İ.; ERTEKIN, F. K.; ÖTLES, S. **Microencapsulation of Extra Virgin Olive Oil by *Spray Drying*: Effect of Wall Materials Composition, Process Conditions, and Emulsification Method**. Food Bioprocess Technol, v. 8, p. 301-18, 2015.
- LIU, Y.; YANG L.; SHI, T.; ZHAO, J.; WANG, H.; LIU, T.; YUE, S.; ZHOU, J.; YU, L.; ZHOU, Y.; ZHU, Z. **The Optimization of *Spray Drying* Process of *Lactobacillus reuteri***. LWT-Food Science and Technology, v. 68, p. 615-18, 2016.
- MACIEL, G. M. **Microencapsulação de *Lactobacillus acidophilus* por *spray-drying* utilizando soro doce e leite desnatado**. 2013. 62 f. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2013.
- MACIEL, G. M.; CHAVES, K. S.; GROSSO, C. R. V.; GIGANTE, M. L. **Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* La-5 by *spray-drying* using sweet whey and skim milk as encapsulating materials**. [Journal of Dairy Science](#), v. 97, n. 4, p. 1991-1998, 2014.
- MARTÍN, M. J.; LARA-VILLOSLADA, F.; RUIZ, M. A.; MORALES, M. E. **Microencapsulation of Bacteria : A Review of Different Technologies and Their Impact on the Probiotic Effects**. Innovative Food Science and Emerging Technologies, v. 27, p. 15-25, 2015.
- NAZZARO, F.; ORLANDO, P.; FRATIANNI, F.; COPPOLA, R. **Microencapsulation in Food Science and Biotechnology**. Current Opinion in Biotechnology, v. 23, n. 2, p. 182-86, 2012.
- NESTERENKO, A.; ALRIC, I.; SILVESTRE, F.; DURRIEU, V. **Vegetable Proteins in Microencapsulation: A Review of Recent Interventions and Their Effectiveness**. Industrial Crops and Products, v. 42, n. 1, p. 469-79, 2013.
- NUNES, G. L.; SILVA, T. M.; HOLKEM, A. T.; VITOR SCHLEY, V.; MENEZES, C. R. **Microencapsulação de culturas probióticas: princípios do método de *spray drying***. Ciência e Natura, v. 37, p. 132-141, 2015.
- PINTO, S. S.; VERRUCK, S.; VIEIRA, C. R. W.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMANTE, E. R.; AMBONI, R. D. M. C. **Potential Use of Whey Concentrate and Prebiotics as Carrier Agents to Protect *Bifidobacterium*-BB-12 Microencapsulated by *Spray Drying***. Food Research International, v. 67, p. 400–408, 2015.

PISPAN, S.; HEWITT, C. J.; STAPLEY, A. G. F. **Food and Bioproducts Processing Comparison of Cell Survival Rates of *E. coli* K12 and *L. acidophilus* Undergoing Spray Drying.** Food and Bioproducts Processing, v. 91, n. 4, p. 362-69, 2013.

RAJAM, R.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. **Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (MTCC 5422) with Fructooligosaccharide as Wall Material by Spray Drying.** LWT-Food Science and Technology, v. 60, n. 2, p. 773-80, 2015.

ROKKA, S.; RANTAMÄKI, P. **Protecting Probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications.** European Food Research and Technology, v. 231, n. 1, p. 1-12, 2010.

SAAD, S. M. I. **Probióticos e Prebióticos: O Estado da Arte.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 42, n. 1, p. 1-16, 2006.

SANTOS, R. C. S. dos. **Microencapsulação de *Lactobacillus Casei* Por Spray Drying.** 2013. 105 f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial da Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2013.

SILVA, K. C. G.; CEZARINO, E. C.; MICHELON, M.; SATO, A. C. K. **Symbiotic microencapsulation to enhance *Lactobacillus acidophilus* survival.** LWT-Food Science and Technology, v. 89, p. 503–509, 2018.

SILVA, P. T. DA; FRIES, L. L. M. F.; MENEZES, C. R. DE; SILVA, C. DE B. DA; SORIANI, H. H.; BASTOS, J. DE O.; MOTTA, M. H.; RIBEIRO, R. F. **Microencapsulation: Concepts, Mechanisms, Methods and Some Applications in Food Technology.** Ciência Rural, v. 44, n. 7, p. 1304-11, 2014.

SONG, H.; YU, W.; GAO, M.; LIU, X.; MA, X. **Microencapsulated Probiotics Using Emulsification Technique Coupled with Internal or External Gelation Process.** Carbohydrate Polymers, v. 96, n. 1, p. 181-89, 2013.

TANG, C-H.; LI, X-R. **Microencapsulation Properties of Soy Protein Isolate: Influence of Preheating and/or Blending with Lactose.** Journal of Food Engineering, v. 117, n. 3, p. 281-90, 2013.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. **Influence of Process Conditions on the Physicochemical Properties of Açai (*Euterpe Oleraceae* Mart.) Powder Produced by Spray Drying.** Journal of Food Engineering, v. 88, p. 411-18, 2008.

TRIPATHI, M. K.; GIRI, S. K. **Probiotic Functional Foods: Survival of Probiotics during Processing and Storage.** Journal of Functional Foods, v. 9, n. 1, p. 225-241, 2014.

VANISKI, R.; SILVA, S. C.; CANAN, C.; DRUNKLER, D. A. **Avaliação do rendimento da microencapsulação de probiótico utilizando proteína de farelo de arroz e maltodextrina como agentes encapsulantes.** ANAIS 6° Simpósio em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Mercosul. 2016. Disponível em: <http://eventosunioeste.unioeste.br/images/cosimp/anais/pages/artigos/13093.pdf>. Acesso em: 15 abr. 2018.

VANISKI, R.; CORTI, D.; DRUNKLER, D. A. **Técnicas e Materiais Empregados na Microencapsulação de Probióticos.** Brazilian Journal of Food Research, v. 8, n. 1, p. 156-184, 2017.

WANG, R.; TIAN, Z.; CHEN, L. A. Novel Process for Microencapsulation of Fish Oil with Barley Protein. **Food Research International**, v. 44, p. 2735-2741, 2011.

XING, Y.; XU, Q.; MA, Y.; CHE, Z.; CAI, Y.; JIANG, L. **Effect of Different Coating Materials on the Biological Characteristics and Stability of Microencapsulated *Lactobacillus acidophilus***. *Food & Function*, v. 5, p. 972-983, 2014.

ZHANG, Y.; LIN, J.; ZHONG, Q. **Effects of Media, Heat Adaptation, and Outlet Temperature on the Survival of *Lactobacillus salivarius* NRRL B-30514 after Spray Drying and Subsequent Storage**. *LWT-Food Science and Technology*, v. 74, p. 441-47, 2016.

ANÁLISE DA QUALIDADE DE CÁPSULAS DE AMOXICILINA, COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE PALMARES –PE.

Letícia Emanuele de Farias Barros

Centro Universitário Tabosa de Almeida
Caruaru-Pernambuco

Ádila Priscila Felix do Nascimento

Centro Universitário Tabosa de Almeida
Caruaru-Pernambuco

Stephanny de Fátima Alves da Silva

Centro Universitário Tabosa de Almeida
Caruaru-Pernambuco

Ana Catarina Simonetti

Centro Universitário Tabosa de Almeida
Caruaru-Pernambuco

Risonildo Pereira Cordeiro

Centro Universitário Tabosa de Almeida
Caruaru-Pernambuco

RESUMO: os antibióticos são uma das classes mais importantes da farmacoterapia, sendo a amoxicilina um dos mais prescritos no mundo. A má qualidade dos medicamentos pode causar ao consumidor danos irreparáveis. Assim, este trabalho teve como objetivo estudar o perfil de qualidade das marcas de amoxicilina comercializadas na cidade de Palmares-PE. Todo o estudo, para se determinar a qualidade de cápsulas de amoxicilina, foi baseado na Farmacopeia Brasileira, avaliando-se características organolépticas e físico-químicas e potência antimicrobiana. Utilizou-se o

microrganismo *Micrococcus luteus* ATCC 9341, soluções obtidas a partir do pó presente nas cápsulas e o solvente nas concentrações de 5 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,05 mg/ml e 0,005 mg/ml, para cada marca. Em relação as características organolépticas e físico-químicas, todas as marcas estavam de acordo com as exigências da Farmacopeia Brasileira. Já quanto a potência apenas uma marca na concentração de 0,5 mg/ml e três marcas na concentração de 5mg/ml estavam dentro dos padrões preconizados. Tendo em vista os resultados obtidos, concluiu-se que das marcas ofertadas à população de Palmares-PE, aproximadamente 57% está fora das especificações, enquanto que aproximadamente 43% está dentro dos padrões aceitáveis. Caracterizando-se, contudo, que, em uma certa proporção, produtos fora das condições de uso estão sendo ofertados.

PALAVRAS-CHAVE: Antibacterianos, Penicilinas, Análise Qualitativa.

ABSTRACT: antibiotics are one of the most important classes of pharmacotherapy, and amoxicillin is one of the most widely prescribed in the world. The poor quality of medicines can cause irreparable damage to the consumer. This work aimed to study the quality profile of amoxicillin brands commercialized in the city of Palmares-PE. All study to determine the quality of amoxicillin capsules were based on

Brazilian Pharmacopeia, evaluating organoleptic and physico-chemical characteristics and antimicrobial potency. We used *Micrococcus luteus* micro-organism ATCC 9341, solutions obtained from the present powder in the capsules and the solvent in concentrations of 5 mg / ml, 0.5 mg / ml, 0.05 mg / ml and 0.005 mg / ml for each brand. Regarding the organoleptic and physico-chemical characteristics, all brands were in accordance with the requirements of the Brazilian Pharmacopoeia. As for the power only one brand at a concentration of 0.5 mg / ml and three marks in a concentration of 5 mg / ml were within the standards set. Considering the obtained results, it is concluded that the brands offered to the population of Palmares-PE, approximately 57% is out of specifications, while approximately 43% is within acceptable standards. It is characterized, however, that in a certain proportion, products outside the conditions of use are being offered.

KEYWORDS: Anti-Bacterial Agents, Penicillins, Qualitative Analysis.

1 | INTRODUÇÃO

Os antibióticos podem ser descritos como uma das classes de medicamentos mais importantes da farmacoterapia, por contribuir para uma redução notória de mortalidade. Por esse motivo, estes fármacos são usados abundantemente por todo o mundo no tratamento de doenças infecciosas por bactérias. São definidos como compostos polares, não voláteis, com estruturas químicas diversas e reações complexas. Suas variadas estruturas químicas contribuem para uma grande atividade química e biológica (CASTIGLIONE et al., 2004; BERNABÉ; FLORES; MARTINEZ, 2013).

O resultado terapêutico satisfatório do antibiótico depende de fatores como: concentração adequada do fármaco, no local da infecção, para inibir o crescimento de bactérias ou eliminá-las; a dose do fármaco necessária para produzir o efeito terapêutico; a potência do antimicrobiano, nas apresentações farmacêuticas e administração correta, considerando-se sempre os limites terapêuticos e de toxicidade (FARAGO et al., 2006).

Dos antibióticos existentes, um apresenta destaque por sua alta utilização, a amoxicilina. Trata-se de um antibiótico da classe das penicilinas de segunda geração, um fenólico beta-lactâmico, com expressiva ação contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Seu mecanismo de ação ainda não é totalmente conhecido, mas sabe-se que atuam por meio da interferência da síntese da parede celular bacteriana (REESE; BETTS; GUMUSTOP, 2002; FREITAS et al., 2011).

A fórmula molecular da amoxicilina é $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, sendo a sua estrutura química formada por um núcleo básico 6 – aminopenicilâmico, sendo um anel tiazolidínico unido a um anel beta-lactâmico que contém um grupamento amino secundário. Dessa forma, a estrutura química da amoxicilina é bastante semelhante à estrutura química da ampicilina, sendo a presença de um grupamento hidroxila, ao invés de hidrogênio,

o ponto de divergência. Por apresentar baixa solubilidade e permeabilidade, a amoxicilina pertence à classe cinco da classificação biofarmacêutica (ALMEIDA; SANTOS; MORAES, 2013).

. A amoxicilina é um fármaco que foi desenvolvido para uso oral, tendo estabilidade em ácido. Quando na forma de cápsulas, é formado por constituintes de amoxicilina tri-hidrata que apresentam ou não, um ou alguns, agentes lubrificantes, secantes e diluentes adequados, inclusos em cápsulas de gelatina (ANVISA, 2010; GOODMAN; GILMAN, 2012).

A qualidade de fármacos não deve ser apenas uma questão de competitividade entre as empresas, deve ser uma obrigação atendida, pois a má qualidade dos fármacos pode gerar implicações gravíssimas na saúde do consumidor. Estas implicações podem ir desde as subdosagens terapêuticas, fazendo com que o tratamento não seja eficaz, até a superdosagens, levando o usuário a um quadro de toxicidade, podendo ambas progredir para um óbito. Para que um medicamento apresente qualidade satisfatória todo o processo de produção deve ser monitorado. A qualidade dos medicamentos pode ser comprometida por fatores como a utilização de matérias-primas e embalagens de baixa qualidade ou que não são compatíveis; a adesão a processos de fabricação inexatos; a desobediência das Boas Práticas de Fabricação; manuseio e armazenamento incorretos; más condições que alterem a estabilidade farmacológica. Desse modo, com o intuito de garantir a qualidade, segurança e eficácia dos fármacos faz-se necessário o cumprimento da regulamentação sanitária com a realização regular de inspeções e fiscalização. Além de realização de testes recomendados pela Farmacopeia Brasileira e outros compêndios oficiais. No caso dos antibióticos, os ensaios de peso médio; tempo de desintegração e dissolução; determinação da potência do princípio ativo por ensaio microbiológico, dentre outros, são recomendados (KÖHLER et al, 2009; PAULO et al, 2011).

O êxito no tratamento de doenças infecciosas bacterianas advém de diversos fatores, dentre eles a antibioticoterapia de qualidade. Esta pode ser descrita, entre outros, como a capacidade do antibiótico de se obter uma concentração, no local da infecção, capaz de exercer o efeito biológico desejado e ao mesmo tempo não ser tóxica as células humanas, assim como a necessidade de que a potência do antimicrobiano esteja correta. Para se determinar esta potência, geralmente, a Farmacopeia Brasileira recomenda que seja por meio de ensaios microbiológicos. Geralmente, a Farmacopeia Brasileira determina para método microbiológico o método de cilindro em placas. Este é realizado em uma placa de Petri onde se encontra um cilindro vertical contendo antibiótico, que irá se difundir por este cilindro, através de uma camada de Ágar solidificado, em concentrações decrescentes (FARAGO et al, 2006; TAKAMUNE; VIEIRA, 2013).

Frente à quantificação de antimicrobianos, o ensaio microbiológico em relação ao ensaio físico-químico apresenta uma grande importância na capacidade de identificar a verdadeira atividade biológica do fármaco. Esta importância pode ser explicada pelo

fato de que os ensaios físico-químicos não têm uma capacidade de detectar todas as alterações moleculares dos antibióticos (SALGADO; LOPES; LUCCHESI, 2006).

Neste contexto, considerando o supramencionado, este estudo objetiva estudar o perfil de qualidade de cápsulas de amoxicilina, comercializadas em Palmares – PE, frente as características organolépticas e potência antimicrobiana.

2 | METODOLOGIAS

Foi estudo analítico – observacional – descritivo, que visou a aquisição de medidas de qualidades de cápsulas de amoxicilina comercializadas na cidade de Palmares-PE. O estudo apresenta como vantagem a fácil execução e objetividade na coleta de dados.

Foram analisadas 7 marcas de amoxicilina em cápsulas, sendo 5 genéricas, 1 similar, 1 referência e a amoxicilina padrão. Com representatividade de 100% das marcas comercializadas no município de Palmares-PE. Todo o estudo da qualidade das cápsulas de amoxicilina comercializadas na cidade de Palmares – PE, analisando características organolépticas e físico químicas e potência antimicrobiana, teve como referência a Farmacopeia Brasileira.

O método utilizado no estudo foi o de difusão em ágar-cilindro em placas, aplicando-se variadas concentrações de amoxicilina, para que fosse possível traçar uma curva que relacionasse o diâmetro do halo de inibição com a potência a amoxicilina. Como referência, usou-se uma amostra de amoxicilina padrão para controle. O microrganismo utilizado para determinar a potência antimicrobiana foi o *Micrococcus luteus* ATCC 9341.

A solução padrão foi preparada com 500mg de amoxicilina em um balão volumétrico de 1000 ml e diluída com tampão fosfato de pH 6,0.

Para se realizar a avaliação da potência do antibiótico, a bactéria foi semeada no meio de cultura ágar Mueller-Hinton, em placas de Petri. Após ser semeada, foram colocados quatro cilindros em cada placa e em cada um adicionado amostras do antibiótico nas concentrações de 5mg/ml, 0,5mg/ml, 0,05mg/ml e 0,005mg/ml. As placas foram então acondicionadas por um período de 18 horas à constante temperatura de 35°C e após esse período medidos os halos de inibição.

Todas as amostras foram analisadas em duplicatas, as amostras de mesma marca tinham também o mesmo lote. Nenhuma amostra adquirida foi excluída do estudo.

A solução padrão foi preparada com 500 mg de amoxicilina, diluída com tampão fosfato de pH 6,0, em um balão volumétrico de 1000 ml.

No preparo do inóculo, inicialmente fez-se uma suspensão bacteriana, com uma cultura realizada recentemente em tampão fosfato de pH 6,0. Em seguida, padronizou-se a concentração deste inóculo a partir da comparação da turbidez com o padrão de 0,5 da escala de MacFarland, no espectrofotômetro. A turvação estava de acordo com a padronizada. No antibiograma e os resultados da absorbância, estavam em 0,9.

Após ser feita a suspensão, o ágar-inoculo foi preparado em proporção de um 1 ml da suspensão bacteriana para 100 ml do meio de cultura ágar Mueller-Hinton no estado líquido e em uma faixa de temperatura entre 45-50°C. Para que a água advinda do metabolismo bacteriano fosse absorvida colocou-se papéis de filtro esterilizados nas tampas, antes que o meio se vertesse.

No preparo das placas adicionou-se 18 mg de meio de cultura ágar Mueller-Hinton, homogêneos com água destilada e esperou que solidificasse. Adicionou-se então 5 ml do ágar-inoculo e em seguida foi colocado quatro cilindros de aço inoxidável a uma distância de aproximadamente 30 mm um do outro. Os cilindros foram lavados, descansou em solução ácida e em seguida foram para autoclave por 15 minutos a 120°C.

Colocou-se em cada placa os cilindros com solução de padrão diluída, pipetou-se o volume no interior de cada cilindro e em seguida colocou-se as placas na estufa.

As amostras das amoxicilinas testadas e o padrão foram preparadas a partir de soluções em soro fisiológico nas concentrações de 5mg/ml, 0,5mg/ml, 0,05mg/ml, 0,005mg/ml, foram pipetadas na quantidade de 200µl para os cilindros anteriormente preparados. Em seguida levou-se a encubação em estufa por 18 horas a 35°C.

Os resultados foram lidos na forma de halos de inibição, analisados estatisticamente por meio do programa informatizado (Excel 2013) e representados por gráficos e tabelas.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram estudadas sete amostras de diferentes laboratórios. Dessas marcas, cinco, representando 71,43% das amostras pesquisadas, eram de medicamentos genéricos. A marca de similar e referência, representam, individualmente, 14,28% das amostras pesquisadas. Elucida-se a facilidade de encontrar nas farmácias os medicamentos genéricos, assim como a dificuldade de encontrar o medicamento de referência. Sendo este, encontrado em apenas uma farmácia.

Apesar disto, a venda de genéricos no Brasil, corresponde apenas a aproximadamente 30%. A venda relativamente baixa, pode ser explicada por diversos fatores como por exemplo a falta de conhecimento e orientação dos consumidores para com o produto; consumidores desacreditados quanto à eficácia deste tipo de medicamento; falta de estímulo advindos dos profissionais médicos (LIRA et al, 2014).

Das amostras de amoxicilina estudadas, todas apresentaram coloração branca, quanto ao estado físico se encontraram na forma de pó, foram solúveis em água e inodora. Quanto a concentração, possuíam 500mg e aspecto de cápsula. Conforme apresentado na tabela 1.

	Genérico 1	Genérico 2	Genérico 3	Genérico 4	Genérico 5	Similar	Referência	Padrão
Cor	Branco	Branco	Branco	Branco	Branco	Branco	Branco	Branco
Estado físico	Pó	Pó	Pó	Pó	Pó	Pó	Pó	Pó
Solúvel em água	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Concentração	500mg	500mg	500mg	500mg	500mg	500mg	500mg	500mg
Aspecto	Cápsula	Cápsula	Cápsula	Cápsula	Cápsula	Cápsula	Cápsula	Cápsula
Odor	Inodoro	Inodoro	Inodoro	Inodoro	Inodoro	Inodoro	Inodoro	Inodoro

Tabela 1: Características Organolépticas e Físico-químicas

Em relação a potência das amostras de amoxicilina genéricas estudadas, na concentração mínima de 0,005 mg/ml, todas as amostras apresentaram-se abaixo do padrão preconizado pelos compêndios oficiais, nenhuma delas teve ação nesta concentração. Na concentração de 0,05 mg/ml apenas os genéricos 2 e 4 apresentaram ação, entretanto, nenhuma das amostras genéricas se encontraram dentro dos padrões oficiais. Com relação a concentração de 0,5 mg/ml, apenas o genérico 5 estava de acordo com os padrões. Por fim, na potência máxima de 5mg/ml os genéricos 3, 4 e 5 estavam de acordo com os padrões (ANVISA, 2010). (Gráfico 1 e 2)

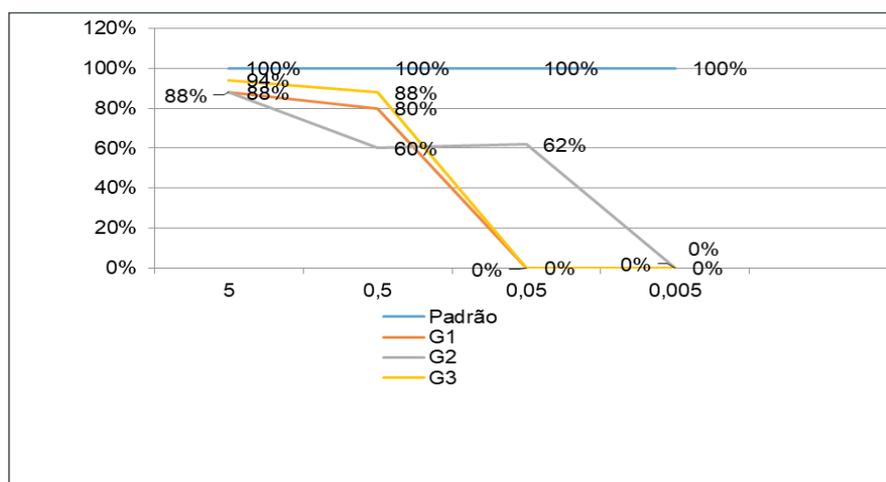


Gráfico 1 - Comparação do tamanho dos halos de inibição da amostra Padrão e Genéricos

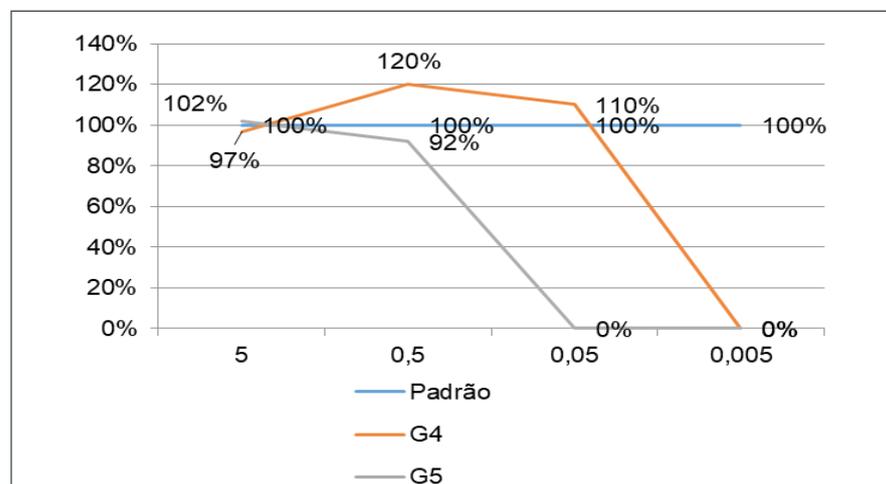


Gráfico 2 - Comparação do tamanho dos halos de inibição da amostra Padrão e Genéricos

A amostra de amoxicilina similar quando comparada com a amostra padrão em nenhuma concentração mostrou-se dentro dos padrões numéricos oficiais exigidos. (Gráfico 3)

A amostra de referência comparada com a amostra padrão, apresentou-se fora dos padrões numéricos oficialmente exigidos pelos compêndios oficiais, variando em valores acima e abaixo, dos determinados, de acordo com as concentrações. (Gráfico 4)

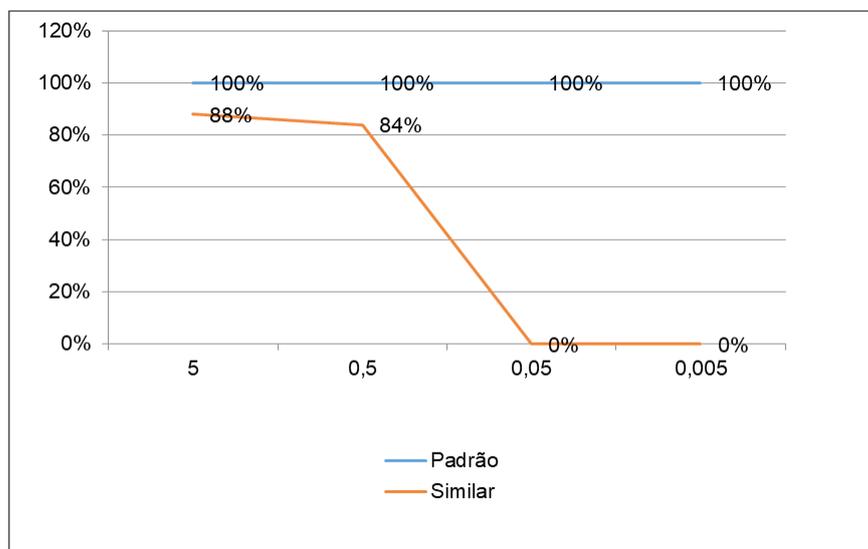


Gráfico 3 - Comparação do tamanho dos halos de inibição da amostra Padrão e Similar

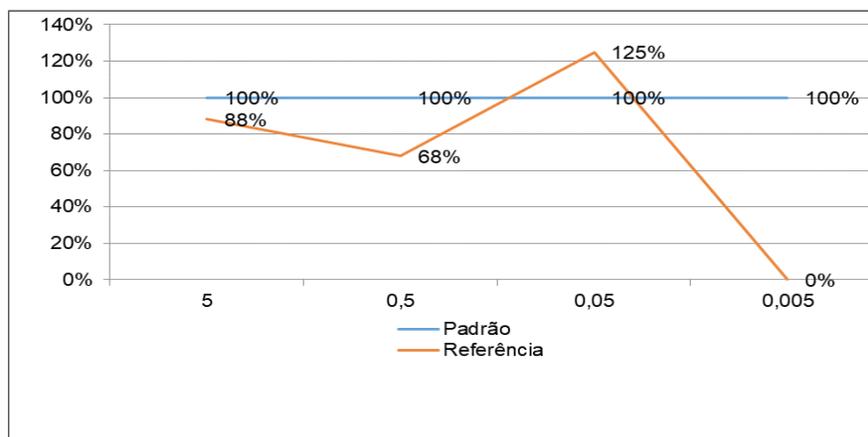


Gráfico 4 - Comparação do tamanho dos halos de inibição da amostra Padrão e Referência

A política de medicamentos genéricos no Brasil, quando implementada, estimulou e permitiu a introdução do conceito de bioequivalência e biodisponibilidade entre os medicamentos intercambiáveis. Atualmente, a legislação nacional define a obrigatoriedade de testes comprobatórios destes conceitos entre os medicamentos genéricos, similares e de referência (ARAÚJO et AL, 2010).

4 | CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos após métodos analíticos, conclui-se que as marcas comercializadas em Palmares – PE apresentam características organolépticas e físico-químicas semelhantes, entretanto há variações em suas potências. Das amostras estudadas, se encontravam dentro do padrão, de potência antimicrobiana, uma amostra (14,28%) na concentração de 0,5 mg/ml e três amostras (42, 85%), na concentração de 5 mg/ml. Com isso, evidencia-se que as demais amostras, nas concentrações estudadas, não estão de acordo com as especificações da Farmacopeia Brasileira. O que esclarece que, em uma relevante porcentagem, medicamentos de má qualidade estão sendo ofertados a população de Palmares – PE.

O êxito na qualidade dos medicamentos depende das técnicas e atividades operacionais realizadas. Qualquer falha na qualidade dos medicamentos pode levar o consumidor a correr risco de morte por ineficácia do tratamento ou toxicidade. Diante disto, a qualidade satisfatória no setor farmacêutico, advém de questões morais e ético. Assim sendo, os fármacos devem ter os aspectos qualidade, eficácia e segurança assegurados pelo órgão sanitário nacional, por meio de fiscalização periódica.

REFERÊNCIAS

- [1] AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA; **Farmacopeia Brasileira, volume 2.** Brasília (Brasil): Anvisa, 2010.
- [2] ALMEIDA JMG, SANTOS CM, MORAES AJ. **Proposição de fórmula de excipiente-padrão para o fármaco amoxicilina manipulado em cápsulas.** e-RAC. 2013;3(1):254.
- [3] ARAÚJO LU, ALBUQUERQUE KL, KATO KC, SILVEIRA GS, MACIEL NR, SPÓSITO PA, et al. **Medicamentos genéricos no Brasil: panorama histórico e legislação.** Rev. Panam. Salud. Publica. 2010;28(6):480-492.
- [4] BERNABÉ EM, FLORES MD, MARTINEZ FM. **Análisis de la dispensación de antibióticos en pacientes ambulatorios en una farmacia comunitaria en Murcia, España.** Vitae. 2013;20(3):203-214.
- [5] CASTIGLIONI S, FANELLI R, CALAMARI D, BAGNATI R, ZUCCATO E. **Methodological approaches for studying pharmaceuticals in the environment by comparing predicted and measured concentrations in River Po, Italy.** Regul. Toxicol. Pharmacol. 2004;39(1):25-32.
- [6] FARAGO PV, ESMERINO LA, PAULA JP, JACOB JS, SERVAT L. **Método Microbiológico para o Doseamento da Potência da Amoxicilina em Suspensões Oraís.** Acta Farm. Bonaer. 2006;25(1):112-116.
- [7] FREITAS SKB, SILVA VL, ARAÚJO AN, MONTENEGRO MCBSM, REIS BF, PAIM APS. **A multicommutated flow analysis method for the photometric determination of amoxicillin in pharmaceutical formulations using a diazo coupling reaction.** J. Braz. Chem. Soc. 2011;22(2):279-285.

- [8] GOODMAN LS, GILMAN AZ. **As Bases farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman**. 12th ed. Rio de Janeiro: AMGH Editora Ltda; 2012.
- [9] KÖHLER LF, NASCIMENTO HD, SCHWENGBER ELL, BANDEIRA ZMP, PAZIN GV, MACHADO SRP. **Avaliação biofarmacotécnica e perfil de dissolução de comprimidos de dipirona: equivalências farmacêutica entre medicamentos de referência, genéricos e similares**. Rev. Bras. Farm. 2009;90(4):309-315.
- [10] LIRA CAB, OLIVEIRA JNS, ANDRADE MS, VANCINI-CAMPANHARO CR, VANCINI RL. **Conhecimentos, percepções e utilização de medicamentos genéricos: um estudo transversal**. Einstein. 2014;12(3):667-273.
- [11] PAULO GD, MAZZUCO AP, RODOLPHO JC, SALGADO HRN, MORENO AH. **Estudo comparativo de cápsulas contendo amoxicilina obtidas de algumas farmácias magistrais**. Rev. Uniara. 2011;14(2):50-60.
- [12] REESE RE, BETTS RF, GUMUSTOP B. **Manual de Antibióticos**. 3rd ed. Rio De Janeiro: Guanabara Koongan AS; 2002.
- [13] SALGADO HRN, LOPES CCGO, LUCCHESI MBB. **Microbiological assay for gatifloxacin in pharmaceutical formulations**. J. Pharm. Biomed. Anal. 2006;40(2):443-446.
- [14] TAKAMUNE LF, VIEIRA DCM. **Comparação da metodologia para determinação da potência de amoxicilina: método de difusão em ágar e método de espalhamento**. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl. 2013;34(4):555-558.

ANÁLISE DA ROTULAGEM DE PRODUTOS NUTRACÊUTICOS CONTENDO ÔMEGA-3 COMERCIALIZADOS EM CELEIROS DA CIDADE DE CASCAVEL-PR

Simona Renz Baldin

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
(UNIOESTE) - Mestrado em Ciências
Farmacêuticas
Cascavel – Paraná

Gabrielle Racoski Custódio

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
(UNIOESTE) - Mestrado em Ciências
Farmacêuticas
Cascavel – Paraná

Jaqueline Franciele Caetano de Oliveira

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
(UNIOESTE) - Mestrado em Ciências
Farmacêuticas
Cascavel – Paraná

Luciana Oliveira de Fariña

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
(UNIOESTE) – Professora do Programa de Pós-
Graduação em Ciências Farmacêuticas
Cascavel – Paraná

RESUMO: Amplamente comercializado no Brasil e demais países, o Ômega-3 é um lipídeo poli-insaturado, essencial ao organismo, que apresenta propriedades funcionais, principalmente relacionadas à proteção de doenças cardiovasculares, por atuar auxiliando na redução dos níveis de triglicerídeos sanguíneos. Em decorrência de seus benefícios à saúde, tem-se o reflexo do aumento do

consumo deste nutracêutico. Assim, este estudo teve como objetivo pesquisar produtos contendo Ômega-3 comercializados em celeiros do município de Cascavel, Paraná, Brasil, e analisar seus rótulos, verificando a sua conformidade com a Legislação vigente. A pesquisa foi realizada em 21 estabelecimentos, no período de maio a junho de 2016, sendo a amostragem representativa por conveniência. Durante a visita aos estabelecimentos, realizou-se a captura de imagens do rótulo dos produtos para sua posterior avaliação quanto à sua adequação frente às legislações vigentes para produtos possuidores de alegação funcional. Após a análise dos rótulos dos produtos, verificou-se que em 10% (2) a alegação funcional e o alerta do risco de alergias não estavam descritas, em 38% (8), a identificação do registro sanitário não estava presente, e 48% (10) não demonstravam as informações nutricionais necessárias exigidas por lei. Dessa forma, observou-se que somente 43% (9) dos produtos analisados estavam em conformidade com a Legislação. Diante disto, pressupõe que a Legislação vigente não vem sendo praticada pelas empresas responsáveis pela fabricação desses produtos e as ausências de informações estabelecidas em seus rótulos podem impactar na efetivação do seu controle de qualidade sendo este fato refletido na saúde e segurança do consumidor.

PALAVRAS CHAVES: Substâncias bioativas; Legislação; DHA.

ABSTRACT: Widely marketed in Brazil and other countries, Omega-3 is a polyunsaturated lipid, essential to the body, which has functional properties, mainly related to the protection of cardiovascular diseases, by acting to reduce blood triglyceride levels. Due to its health benefits, the increase in consumption of this nutraceutical is reflected. Thus, this study aimed to research products containing omega-3 sold in natural food stores in the municipality of Cascavel, Paraná, Brazil, and to analyze their labels, verifying their compliance with current legislation. The research was carried out in 21 establishments, from May to June of 2016, being representative sampling for convenience. During the visit to the establishments, the product labels were captured for their subsequent evaluation as to their suitability to the legislation for products with functional claims. After analyzing the product labels, it was found that in 10% (2) the functional claim and allergy risk alert were not described, in 38% (8), the identification of the health registry was not present, and 48% (10) did not demonstrate the required nutritional information required by law. Thus, it was observed that only 43% (9) of the analyzed products were in compliance with the Legislation. In view of this, it assumes that the legislation in force is not being practiced by the companies responsible for the manufacture of these products and the absence of information established in its labels can impact the effectiveness of its quality control and this fact is reflected in the health and safety of the consumer.

KEYWORDS: Bioactive substances; Legislation; DHA.

1 | INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos são compostos essenciais das membranas celulares que são constituídos por compostos lipídicos poli-insaturados de cadeia longa, com ligação dupla que está localizada a três carbonos do final, ou seja, a ligação dupla está na posição 3 a partir do grupamento metila (CHALON, 2006; LIMKETKAI; WOLF; PARIAN, 2018). Os principais representantes são os ácidos de cadeia longa alfa-linolênico (ALA), o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA), sendo considerados essenciais ao organismo, pois não são sintetizados endogenamente, devendo assim serem complementados com dieta (KAYSER et al., 2010; BORGES et al., 2014).

Acredita-se que os ácidos graxos Ômega-3 possuem propriedades anti-inflamatórias e têm sido usado para tratar diversas doenças médicas (LIMKETKAI; WOLF; PARIAN, 2018), incluindo a redução dos níveis de triglicérides, pressão arterial, frequência e variabilidade da frequência cardíaca, função endotelial, envelhecimento, saúde cerebral, cardiovascular e ocular (BURKE; BURKE; SOFFER, 2017; GUTSTEIN; COPPLE, 2017; ARCA et al., 2018; BENES et al., 2018).

Além disso, afetam a trombose, oxidação, reatividade vascular, atividade elétrica cardíaca e possuem efeitos cardiovasculares (BURKE; BURKE; SOFFER, 2017).

Em populações envelhecidas, a suplementação de EPA e DHA tem sido associada à melhora da saúde cardiovascular, à manutenção da função cognitiva, à retenção de habilidades visuais e à diminuição da resposta inflamatória a lesões (KLEINER; CLADIS; SANTERRE, 2015).

Essas ações anti-inflamatórias são desencadeadas por meio dos eicosanoides, estes, são sintetizados através dos ácidos graxos essenciais, por exemplo, o ácido eicosapentanóico (EPA), incluindo as prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos e outros derivados oxidados que realizam a mediação e regulação da inflamação (BORGES et al., 2014).

Outras recomendações que referem as propriedades dos ácidos graxos poli-insaturados retratam a prevenção de doenças crônico-degenerativas e como auxiliar no tratamento de depressão (KAYSER et al., 2010; SANTOS, 2016).

Salientando as diversas propriedades mencionadas anteriormente, é de suma importância a ingestão de Ômega-3. Para isso, deve-se consumir peixes de águas frias e profundas, em especial cavala, salmão, sardinha, truta e fitoplânctons, que estabelecem a base da cadeia alimentar dos oceanos. Além disso, também é possível encontrar este nutriente em óleos vegetais de sementes de linhaça, canola, milho, girassol e em castanhas (ANDRADE; CARMO, 2006; GEBAUER et al., 2006).

Como forma de suplementação, a ingestão diária de 500 mg de Ômega-3 (EPA e DHA combinados) é recomendada por organizações dietéticas/nutricionais como parte de uma dieta de 2000 calorias para adultos (GUTSTEIN; COPPLE, 2017).

Nos últimos anos, o consumo de suplementos alimentares aumentou e tornou-se um componente cada vez mais importante das dietas humanas. Há muitos fatores que influenciam esse aumento, mas as razões mais importantes por trás do aumento da ingestão de óleo de peixe são o aumento da conscientização dos consumidores sobre o consumo, benefícios de saúde associados com EPA e DHA e o fato de que os suplementos dietéticos são a maneira mais econômica de aumentar as ingestões de EPA e DHA (KLEINER; CLADIS; SANTERRE, 2015).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), não reconhece o termo nutracêutico. No entanto, a RDC nº 02, de 2002, define substância bioativa que seria uma definição oficial mais equiparável a nutracêuticos. Essa é definida como nutriente ou não nutriente com ação metabólica ou fisiológica específica no organismo, devendo estar presente em fontes alimentares, seja de origem natural ou sintética, sem finalidade medicamentosa ou terapêutica (BRASIL, 2002a). Embora existam legislações e definições que possam ser aplicáveis a nutracêuticos, não há reconhecimento oficial da categoria, bem como não há nenhuma lei específica para esses produtos que trate de sua eficácia, segurança e qualidade (LIRA et al., 2009).

Para que as substâncias bioativas sejam comercializadas, devem apresentar alegação de propriedade funcional ou de saúde. As alegações de propriedade funcional são aquelas que descrevem o papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou outros

constituintes (ex. substâncias bioativas e microrganismos) possuem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano (ANVISA, 2016). Os ácidos graxos EPA e DHA apresentam alegação de propriedade funcional aprovada pela ANVISA (2016).

Mediante a legislação de produtos com alegação funcional e as exigências quanto aos rótulos, este estudo teve como objetivo pesquisar os rótulos de produtos contendo Ômega-3 comercializados em celeiros do município de Cascavel, Paraná, Brasil para verificar sua conformidade com a Legislação vigente.

2 | METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada em 21 celeiros localizados na cidade de Cascavel/PR, sendo a amostragem realizada de forma representativa por conveniência, no período de julho e agosto de 2016.

Apresentou-se aos locais de pesquisa uma carta de esclarecimento, utilizada como documento de autorização para a pesquisa. Assim, as embalagens dos nutracêuticos que continham somente Ômega-3 foram fotografadas para posterior análise. Foi realizada a coleta de dados, em relação à marca do produto, nome comercial, forma farmacêutica, quantidade de produto, informações contidas nos rótulos, como fabricante, tabela nutricional e demais características pertinentes.

Foi realizada uma pesquisa online no site da ANVISA, em relação às Normas para rotulagem de produtos contendo Ômega-3 e, devido à inexistência de normas específicas para nutracêuticos, em especial para Ômega-3, e também pelo o fato dos mesmos apresentarem alegação aprovada referente à sua propriedade funcional, utilizou-se normas relacionadas à alegação funcional e também normas associadas à alimentos funcionais e para fins especiais.

Para análise e interpretação dos resultados, utilizaram-se como base as seguintes normas vigentes: RDC 278 (BRASIL, 2005), RDC 360 (BRASIL, 2003a), RDC 259 (BRASIL, 2002b), RDC 26 (BRASIL, 2015) e Lei 10.674 (BRASIL, 2003b) e a Alegação de Propriedade Funcional do Ômega-3, bem como os requisitos específicos relacionados à sua presença, dispostos em ANVISA, (2016).

Os dados obtidos foram avaliados qualitativamente e expressos em gráficos de frequência.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificadas 47 formulações de cápsulas gelatinosas contendo Ômega-3. Dentre elas, algumas marcas se repetiram e por isso foram excluídas, desta forma, foram analisados 21 produtos, considerando-se os aspectos dispostos na Figura 1.

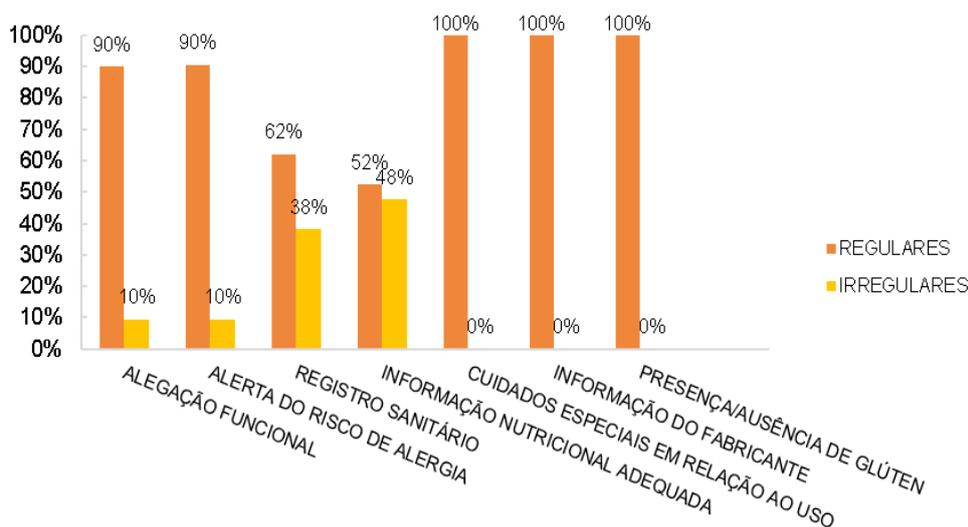


Figura 1: Regularidades e irregularidades em relação aos itens avaliados em 21 produtos contendo Ômega-3 em suas formulações, comercializadas em celeiros de Cascavel/PR.

Os produtos com alegação de propriedade funcional devem apresentar em seus rótulos a alegação padronizada e aprovada no momento do registro do produto, para o Ômega-3, conforme a seguir:

“O consumo de ácidos graxos ômega 3 auxilia na manutenção de níveis saudáveis de triglicerídeos, desde que associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis” (ANVISA, 2016).

O texto proposto deve ser verdadeiro, correto e claro para evitar que o consumidor seja induzido a qualquer tipo de equívoco ou engano em relação às reais características dos alimentos, especialmente sua composição, propriedades e forma de uso.

Neste contexto, verificou-se que 10% (dois) dos produtos analisados não apresentaram estas informações em seus rótulos. Considerando o livre acesso à população, em celeiros, muitas vezes sem o devido esclarecimento e acesso a informação, é evidente que os consumidores ficam sem a informação necessária para o correto entendimento da indicação de uso do Ômega-3, visto que o mesmo não é considerado um medicamento, e sim um produto com alegação funcional e que de forma isolada não irá apresentar os efeitos desejados, sendo necessário a sua associação com hábitos de vida saudáveis.

A alergia alimentar é um problema de saúde pública que aumentou significativamente em todo o mundo na última década, afetando a qualidade de vida dos consumidores e exigindo cada vez mais recursos de serviços de saúde (ALCOCER; ARES; LÓPEZ-CALLEJA, 2016). Como uma medida de prevenção de crises alérgicas, em 2013 foi criada a Lei 10.674 (BRASIL, 2003b), que determina a impressão de advertência em rótulos e embalagens de alimentos industrializados que contenham glúten, a fim de evitar a doença celíaca ou síndrome celíaca. E em 2015, a RDC nº 26 (BRASIL, 2015), estabeleceu os requisitos para rotulagem obrigatória dos principais alimentos que causam alergias alimentares. Os alimentos, ingredientes, aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia que contenham ou sejam derivados

dos alimentos listados na respectiva Resolução, devem apresentar obrigatoriamente a declaração “Alérgicos: Contém ...”, “Alérgicos: Contém derivados de ...” ou “Alérgicos: Contém ... e derivados”, conforme o caso.

Assim os rótulos dos produtos nutracêuticos que contenham Ômega-3 necessitam apresentar informações referentes à presença ou ausência de glúten e também sobre a presença de derivados de peixes, visto que o Ômega-3 é derivado de óleos de peixes, óleo de krill ou óleo de *Schizochytrium sp.* (ANVISA, 2016).

Dos produtos analisados, em 10% (dois) não foram apresentadas as declarações em relação à presença de componentes alergênicos nos rótulos, devido à procedência. Considerando que ao ser desencadeada uma resposta alérgica no organismo ocorre à liberação de mediadores vasoativos na circulação sanguínea, que podem conduzir ao colapso vascular, à anafilaxia e ao choque (SARINHO; LINS, 2017), levando o paciente à morte. Evidencia-se assim a importância deste esclarecimento, visando à segurança do uso pelo consumidor.

No entanto, em relação à advertência sobre presença/ausência do glúten, todos os produtos apresentaram-se regulares, estando de acordo com a Lei 10.674 (BRASIL, 2003b), garantindo assim à população, o acesso à informação e segurança no consumo dos produtos por aqueles eventualmente portadores da doença celíaca.

Outro aspecto analisado foi a presença do número do Registro Sanitário. A RDC nº 278 (BRASIL, 2005) estabelece que substâncias bioativas com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde devem obrigatoriamente possuí-lo. Nos produtos analisados, observou-se que 38% (8), não possuía identificação do registro sanitário. O registro sanitário é de suma importância, pois é o ato legal que reconhece a sanidade do produto, sendo este um controle feito antes da comercialização, utilizado no caso de produtos que possam apresentar os eventuais riscos à saúde. Esse registro do fabricante e do produto garante a procedência confiável da matéria-prima, do processo de fabricação e de todas as normas sanitárias exigidas para o registro do produto conforme a Legislação pertinente.

A falta deste registro, destaca a inexistência do controle de qualidade dos produtos presentes nos estabelecimentos comerciais, deixando a população com acesso livre à produtos sem qualquer garantia de boa procedência e eficácia.

A falta do registro sanitário, que legalmente reconhece a qualidade do produto ofertado perante a legislação sanitária traz reflexões sobre a importância da fiscalização regulatória e do controle de qualidade dos insumos utilizados e do produto acabado, pois diversas apresentações são comercializadas na forma de comprimidos, cápsulas duras e moles. Isto condiciona os órgãos de fiscalização a um maior senso crítico em relação à avaliação desses produtos. Levando-se em consideração que devido à sua composição, os excipientes utilizados nos processos produtivos requerem controles físico-químicos e instrumentais conforme apresentado em compêndios oficiais para assegurar sua qualidade e adequação às normas de identidade, atividade, teor, pureza, eficácia e inocuidade para sua fabricação (LIRA et al., 2009; BRASIL, 2010, 2015).

Na tabela de informação nutricional deve ser declarada a quantidade de gorduras totais (g), saturadas (g), trans (g), monoinsaturadas (g), poli-insaturadas (g) e colesterol (mg), conforme RDC nº 360 (BRASIL, 2003a). Adicionalmente, o conteúdo de EPA e DHA presente no produto deve ser declarado abaixo da quantidade de gorduras poli-insaturadas em miligramas (ANVISA, 2016).

Em relação à informação nutricional completa nos rótulos, 48% (10) não apresentaram todas as informações necessárias exigidas. A omissão destas informações é preocupante, pois gera a dúvida dos componentes do produto e, por outro lado, deve-se considerar os consumidores com restrições alimentares. Em cada período da vida, como gestação, lactação e infância, há a necessidade da suplementação em doses exata e necessárias, principalmente do DHA, e sem essa informação especificada, não há segurança nenhuma no uso dos produtos e garantia dos seus componentes.

A Figura 2 mostra a frequência do aparecimento das irregularidades, sendo a informação nutricional completa e a falta de registro sanitário, os itens com maior representatividade e não conformidades, respectivamente.

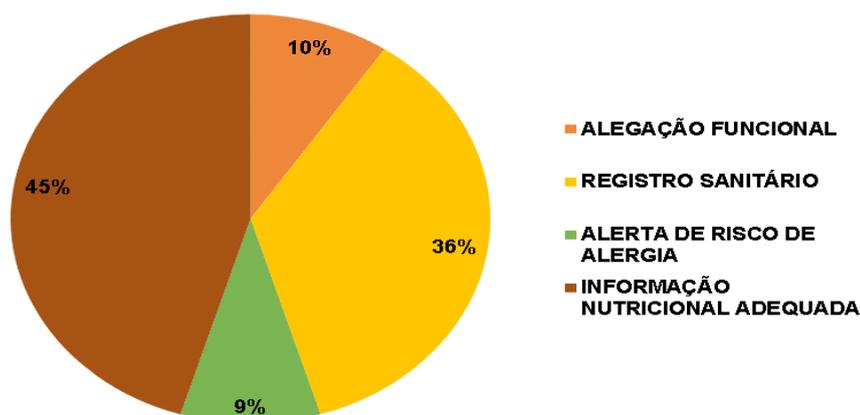


Figura 2: Frequência de irregularidades observadas nos 21 produtos contendo Ômega-3 em suas formulações, comercializadas em celeiros de Cascavel/PR.

Dos itens analisados, somente os cuidados especiais em relação ao uso, informação do fabricante e presença ou ausência de glúten, estavam presentes em todos os rótulos estando então todas as embalagens de acordo com a legislação.

Considerando que estes produtos são de venda livre, apresentam propriedades funcionais e são consumidos objetivando o auxílio na manutenção da saúde, é de grande valia, pois a boa qualidade e a presença de informações sobre sua composição e seu correto uso, garantem o consumo destes de forma consciente e segura. Ao serem adquiridos em celeiros, não haverá para estes produtos a orientação de consumo realizada por profissionais capacitados, como médicos e/ou farmacêuticos, indicando que a adequada rotulagem tem papel importante para ajudar na garantia da saúde do consumidor.

A frequência das conformidades e não conformidades foram observadas

considerando o total de inadequações observadas na pesquisa. Assim, observou-se que, ao se considerar todas as irregularidades observadas, somente 43% (9) dos produtos analisados continham rótulos em conformidade com a legislação vigente.

Dessa forma entende-se que 57% (12) dos produtos comercializados em celeiros na cidade de Cascavel/PR, portanto a maioria, apresentou irregulares em relação às aplicações das normativas dispostas nas Legislações consideradas na pesquisa. Deste modo, evidencia-se a necessidade de fiscalização regulatória, visando a garantia da saúde e segurança do consumidor, por meio do controle de qualidade, quantitativamente e qualitativamente dos produtos que contem Ômega-3, por meios de ensaios experimentais para atingir o efeito desejado sem que haja uma variabilidade no produto final (GUTSTEIN; COPPLE, 2017). E esta ação se torna ainda mais indispensável, ao considerar o aumento do consumo destes suplementos alimentares pela população.

Dos que apresentaram irregularidades (12), 42% dos produtos analisados apresentaram erro em apenas um aspecto, 42% apresentaram erros em 2 aspectos, 8% em 3 aspectos e 8% em 4 aspectos observados em desacordo com a legislação.

Um estudo realizado em 2015, nos EUA, onde foram avaliadas as declarações dos rótulos de EPA e DHA de suplementos alimentares de peixe, krill e óleo de algas comercializado em Lafayette e Chesterfield, ficou demonstrada a grande variabilidade entre as quantidades declaradas de EPA e DHA e aquelas determinadas analiticamente. Essas determinações não foram realizadas neste trabalho, porém estes resultados indicaram que ainda há espaço para melhorias na regulamentação dos suplementos alimentares, uma vez que todos os suplementos não conformes estavam comercialmente disponíveis naquele período do trabalho realizado (KLEINER; CLADIS; SANTERRE, 2015).

No geral, a variabilidade na qualidade e na quantidade de Ômega-3 entre diferentes produtos e entre diferentes lotes do mesmo produto pode ser devido à falta de supervisão regulatória oferecida aos suplementos alimentares e, assim, consumidores e profissionais de saúde não têm como saber exatamente o que está contido em suplementos alimentares Ômega-3. (GUTSTEIN; COPPLE, 2017). Mesmo não tendo sido realizada essa constatação seria de grande utilidade para a pesquisa, sendo esta uma indicação para a continuidade desta pesquisa.

4 | CONCLUSÃO

A partir da análise de dados obtidos por meio desta pesquisa, a maioria dos produtos comercializados apresentaram algum tipo de irregularidade em seus rótulos, evidenciando assim, a ausência e/ou ineficiência de fiscalização deste tipo de produto oferecido ao consumidor. É importante destacar que sem uma legislação específica no que tange à produção e ao controle de qualidade deste tipo de produtos funcionais,

considerados alimentos funcionais, as possibilidades são restritas de garantir um produto de qualidade e seguro aos consumidores, a partir da rotulagem dos produtos.

Considerando o livre acesso da população a estes produtos em celeiros, sem a presença de um profissional habilitado na seleção para venda e para sanar quaisquer dúvidas por parte do consumidor, a população fica desassistida, uma vez que a segurança e a qualidade dos produtos podem não estarem adequadas para o consumo.

Outro fator importante a ser considerado, é inexistência de regulamentação nacional específica para este tipo de produto, deixando à indústria com mais liberdade para a elaboração desses rótulos, o que pode deixar a população exposta à produtos com procedência duvidosa.

5 | AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária pelo financiamento, e aos celeiros da cidade de Cascavel/PR – Brasil, que permitiram a realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS

ALCOCER, M. J. C.; ARES, S. de la C.; LÓPEZ-CALLEJA, I. **Recent advances in food allergy**. Brazilian Journal of Food Technology, v. 19, 2016.

ANDRADE, P. de M. M.; CARMO, M. das G. T. do. **N-3 fatty acids: a link between eicosanoids, inflammation and immunity**. MN-Metabólica, v. 8, n. 3, p. 135–143, 2006.

ANVISA. **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>>.

ARCA, M.; BORGHI, C.; PONTREMOLI, R.; DE FERRARI, G. M.; COLIVICCHI, F.; DESIDERI, G.; TEMPORELLI, P. L. **Hypertriglyceridemia and omega-3 fatty acids: Their often overlooked role in cardiovascular disease prevention**. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, v. 28, n. 3, p. 197–205, 2018.

BENES, L. B.; BASSI, N. S.; KALOT, M. A.; DAVIDSON, M. H. **Evolution of Omega-3 fatty acid therapy and current and future role in the management of dyslipidemia**. Cardiology Clinics, 2018.

BORGES, M. C.; SANTOS, F. M. M.; TELLES, R. W.; CORREIA, M. I. T. D.; LANNA, C. C. D. **Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e lúpus eritematoso sistêmico: O que sabemos?** Revista Brasileira de Reumatologia, v. 54, n. 6, p. 459–466, 2014.

BRASIL. **Resolução - RDC Anvisa Nº 2, de 7 de Janeiro de 2002**. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde, e dá outras providências. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2002a.

BRASIL. **Resolução - RDC nº 259, de 20 de Setembro de 2002**. Aprova o Regulamento

Técnico sobre rotulagem de alimentos embalados. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2002b.

BRASIL. **Resolução RDC nº 360, de 23 de Dezembro de 2003.** Aprova Regulamento Técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2003a.

BRASIL. **Lei 10.674, de 16 de Maio de 2003.** Obriga a que os produtos alimentícios comercializados informem sobre a presença de glúten, como medida preventiva e de controle da doença celíaca. Coodenação de Estudos Legislativos, 2003b.

BRASIL. **Resolução RDC nº 278, de 22 de Setembro de 2005.** Aprova as categorias de alimentos e embalagens dispensados e com obrigatoriedade de Registro. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005.

BRASIL. **Resolução - RDC Nº 17, de 16 de Abril de 2010.** Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.

BRASIL. **Resolução - RDC nº 26, de 02 de Julho de 2015.** Dispõe sobre os requisitos pararotulagem obrigatória dos principais alimentos que causam alergias alimentares. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2015.

BURKE, M. F.; BURKE, F. M.; SOFFER, D. E. **Review of Cardiometabolic Effects of Prescription Omega-3 Fatty Acids.** Current Atherosclerosis Reports, v. 19, n. 12, 2017.

CHALON, S. **Omega-3 fatty acids and monoamine neurotransmission.** Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids, v. 75, n. 4–5, p. 259–269, 2006.

GEBAUER, S. K.; PSOTA, T. L.; HARRIS, W. S.; KRIS-ETHERTON, P. M. **n-3 Fatty acid dietary recommendations and food sources to achieve essentiality and cardiovascular benefits.** The American Journal of Clinical Nutrition 85, 1203–1211., v. 83, p. 1526–1535, 2006.

GUTSTEIN, A. S.; COPPLE, T. **Cardiovascular disease and omega-3s: Prescription products and fish oil dietary supplements are not the same.** Journal of the American Association of Nurse Practitioners, v. 29, n. 12, p. 791–801, 2017.

KAYSER, C. G. R.; KREPSKY, L. H.; OLIVEIRA, M. R.; LIBERALI, R.; COUTINHO, V. **Benefícios da ingestão de Omega 3 e a prevenção de doenças crônico degenerativas - Revisão Sistemática.** Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e emagrecimento, v. 4, n. 21, p. 137–146, 2010.

KLEINER, A. C.; CLADIS, D. P.; SANTERRE, C. R. **A comparison of actual versus stated label amounts of EPA and DHA in commercial omega-3 dietary supplements in the United States.** Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 95, n. 6, p. 1260–1267, 2015.

LIMKETKAI, B. N.; WOLF, A.; PARIAN, A. M. **Nutritional Interventions in the Patient with Inflammatory Bowel Disease.** Gastroenterology Clinics of North America, v. 47, n. 1, p. 155–177, 2018.

LIRA, C. R. G.; ZUCCO, F.; NEGRÃO, A. N.; SILVA, M. A. S.; MURAKAMI, F. S. **Nutracêuticos: aspectos sobre segurança, controle de qualidade e legislação.** Revista

Brasileira de Farmácia, v. 90, n. 1, p. 45–49, 2009.

SANTOS, R. N. **Efeitos dos ácidos graxos Ômega-3 no tratamento do transtorno depressivo maior: uma revisão.** International Journal of Nutrology, v. 9, n. 1, p. 144–152, 2016.

SARINHO, E.; LINS, M. das G. M. **Severe forms of food allergy.** Jornal de Pediatria (Rio J), v. 93, p. 53–59, 2017.

INATIVAÇÃO DE CONSERVANTES DE CREMES COMERCIAIS CONTENDO PROBIÓTICOS PARA AVALIAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE SUA VIABILIDADE

Ana Caroline Da Costa

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Cascavel – Paraná

Luciana Oliveira de Fariña

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Cascavel – Paraná

Suzana Bender

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Cascavel – Paraná

Helena Teru Takahashi Mizuta

Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Cascavel – Paraná

RESUMO: Estão disponíveis no mercado brasileiro produtos cosméticos contendo probióticos, na forma de microrganismos vivos, seus metabólitos ou mesmo o lisado celular. Também estão disponíveis matérias-primas contendo probióticos que podem ser utilizadas como ‘ingredientes bioativos’ na fabricação de cosméticos (Vale, 2015). A viabilidade desses microrganismos é fundamental para se alcançar o efeito probiótico desejado. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade dos probióticos em formulações cosméticas comerciais para se comprovar sua aplicação como cosmético probiótico. Foram utilizadas amostras de creme hidratante facial probiótico-Cleópatra (Biologicus), máscara facial

probiótica-Cleópatra (Biologicus), hidratante probiótico Anna Pegova e Bulgaricu’s Secret Gold Top Therm (citados no trabalho como A, B, C e D, respectivamente). As amostras foram adicionadas a uma solução inativante (3% de tween 80(v/v) e 0,3% de lecitina (m/v) e 3% de histidina) e completou-se para 99mL de salina. Então, foram diluídas, filtradas e plaqueadas em MRS Agar por profundidade mantidas em jarras de anaerobiose em estufa (37°C por 48 h). Não foi observado crescimento de microrganismos em nenhuma das placas. A ausência de crescimento indica que, apesar da inativação do conservante ter sido realizada por meio de técnicas estabelecidas para este fim, não foi possível obter o crescimento dos microrganismos pesquisados.

PALAVRAS-CHAVE: antioxidante; cosméticos; viabilidade;

1 | INTRODUÇÃO

As formulações cosméticas, assim como os demais produtos industrializados, estão passíveis de contaminação, seja durante o processo de produção pelos materiais utilizados, ambiente em que foi desenvolvido, ou até mesmo dos manipuladores envolvidos. Porém, mesmo que a legislação não presuma que esses produtos necessitem ser estéreis,

foram preconizados parâmetros microbiológicos (RDC nº 481 de 23 de setembro de 1999), pois conforme afirmou Wolf et al (2001) além da contaminação durante o desenvolvimento, os produtos cosméticos, durante o período em que é utilizado pelo consumidor, entra em contato com a pele humana e pode sofrer recontaminação a cada novo uso. Ademais a temperatura, bem como umidade do meio em que são armazenados e as matérias-primas contidas nos produtos podem favorecer o crescimento de microrganismos patógenos.

Diante disso, presume-se que os conservantes são adicionados a um produto cosmético com a finalidade de minimizar o crescimento de microrganismos e proteger contra possíveis oxidações (REBELLO, 2005).

Os conservantes químicos também são muito utilizados, estes inibem a reação de oxidação de alguns componentes em presença do oxigênio (WILKINSON; MOORE, 1982).

Encontrar o conservante ideal, que esteja de acordo com critérios de conservação, segurança e toxicidade é uma tarefa difícil para o formulador (LERANOZ, 2002). O conservante considerado ideal deve apresentar amplo espectro de ação, estabilidade em ampla faixa de pH e temperatura, compatibilidade com ingredientes da fórmula e com a embalagem, não deve alterar as características do produto nem ser agressivo ao consumidor e ao ambiente e ser aprovado pelas agências reguladoras, além de ser ativo em baixas concentrações (WILKINSON; MOORE, 1982).

Sob outro prisma, nos cosméticos com a alegação de probióticos, a viabilidade dos micro-organismos é fundamental para se alcançar o efeito desejado. Probióticos são microorganismos que possuem efeitos benéficos no organismo humano, como o fortalecimento do sistema imunológico, redução da inflamação e capacidade de acelerar o processo de cicatrização de feridas. Além disso, por meio de diversos mecanismos estas bactérias são capazes de produzir substâncias inibitórias ácidas ou bacteriocinas, excretar antibióticos, bloquear adesão de patógenos, competir por nutrientes e ainda exercem atividade antioxidante. Estudos clínicos já constataram que probióticos podem exercer outros efeitos benéficos a saúde além do bem-estar intestinal, como melhorar o eczema atópico, a dermatite atópica, cicatrização de queimaduras e cicatrizes, rejuvenescendo a pele e também melhorando a imunidade inata da pele. Uma nova hipótese foi lançada em 2010 por Arck et, os quais propoem a idéia de um eixo cérebro-pele, que sugere que a modulação do microbioma por implantação de probióticos pode exercer profundos efeitos benéficos.

No entanto, a avaliação da presença e quantificação desses micro-organismos em produtos cosméticos é possível desde que seja realizada a inativação dos conservantes que eventualmente possam estar presentes, utilizados no intuito de evitar o crescimento de micro-organismos contaminantes e patógenos nessas formulações (RAMOS 2010), ou para verificar a presença como probióticos. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade dos probióticos em formulações cosméticas comerciais para se comprovar sua aplicação como cosmético probiótico.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Foram empregadas amostras de creme hidratante facial probiótico-Cleópatra (Biologicus)[®], máscara facial probiótica-Cleópatra (Biologicus)[®] e hidratante probiótico Anna Pegova[®] (citados no trabalho como A, B e C, respectivamente). Um grama de cada amostra foi adicionada a uma solução salina (99 mL) previamente esterilizada contendo os inativantes : Tween 80 (3%v/v), lecitina (0,3% m/v) e histidina (0,3% m/v) (diluição do produto). Em seguida foi realizada mais uma diluição (). Um mL de ambas as diluições foram plaqueadas em duplicata e por profundidade empregando-se o ágar MRS. Após o plaqueamento, o que sobrou das duas diluições foi filtrado respectivamente em duas membranas de éster de celulose (diâmetro 0,45µm) e submetido à rinsagem (100mL de solução salina estéril). Posteriormente, as membranas foram retiradas assépticamente e inoculadas em placa de Petri contendo MRS já solidificado. Todas as placas foram incubadas em jarras de anaerobiose em estufa a 37°C por 48 h.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi detectado o crescimento de micro-organismos em nenhuma das placas, tanto no método empregando-se inativantes químicos combinado com diluição, como combinando-se inativantes, diluição e filtração. Esse resultado corrobora com estudo já feito por Ramos (2010), o qual utilizou metodologia semelhante, com solução inativante contendo tween 80 3 % e lecitina de soja 0,3 %, porém com diluição e sem histidina. Entretanto, Ramos após adaptações em sua metodologia conseguiu recuperar os micro-organismos com eficácia de 92-102%. Assim como no presente trabalho, Ramos (2010) observou que o crescimento dos micro-organismos foi inibido e atribuiu essa dificuldade aos princípios ativos que poderiam ter atividade antimicrobiana, sugerindo que possa ser necessário uma maior diluição para neutralização destes compostos. Portanto, existe a possibilidade do mesmo estar acontecendo com os cremes analisados, ou seja, os princípios ativos que incrementam a formulação apresentam atividade antimicrobiana. Costa Vale et al. (2015) ao avaliar a atividade antioxidante de um produto contendo probióticos (Ecoskin[®]) observou que só foi possível analisar o número de unidades formadoras de colônias em um grama de produto após ativação dos probióticos em caldo TSB (TrypticSoyBroth) 10% (v/v), sugerindo que os micro-organismos presentes no produto estão inativos.

Marques (2009) num ensaio de validação em protetor solar recuperou os micro-organismos inoculados (desde valores <10 a 6,30x10⁴ UFC), onde utilizou uma solução inativante composta por solução salina, Tween 80 a 3% e ± lecitina a 0,3% com a diferença de que este utilizou pérolas de vidro para a homogeneização completa e não utilizou histidina.

Santos (2015) em seu trabalho desenvolveu uma formulação tópica acrescida de probióticos para tratar a mastite em animais. O autor observou que tanto no

grupo controle (amostra sem conservantes), quanto nos grupos contendo os agentes conservantes, houve redução da população de células viáveis ao longo dos 28 dias de ensaio. O grupo controle foi o que apresentou a maior taxa de sobrevivência após 28 dias de ensaio (16,51%). Os grupos contendo os agentes conservantes avaliados apresentaram uma redução mais expressiva, 0,05% para os grupos contendo metilparabeno, e 0,13% para o grupo contendo sorbato de potássio. Seus resultados permitiram afirmar que os agentes conservantes avaliados exerceram efeito inibitório sobre as cepas de *Lactobacillus* que compunham a preparação probiótica. Portanto, também pode-se inferir que como no presente trabalho as formulações utilizadas mesmo estando dentro do prazo de viabilidade do produto, já haviam sido desenvolvidas há um determinado período, este tempo juntamente com os componentes conservantes da formulação podem ter inibido o crescimento dos microorganismos, sendo necessário possivelmente como já citado anteriormente, uma ativação em caldo TSB para recuperar as bactérias.

4 | CONCLUSÃO

A ausência de crescimento indica que, apesar da inativação do conservante ter sido realizada por técnicas pré-estabelecidas, não foi possível recuperar microorganismos pesquisados. De acordo com Anvisa (2010) produtos cosméticos devem ser isentos de microrganismos e adicionados de conservantes capazes de protegê-los. Considerando a metodologia utilizada ser a de referência e que não foi possível avaliar a viabilidade dos probióticos nos produtos cosméticos analisados há possibilidade de os cremes avaliados não conterem probióticos na forma de células viáveis, mas de extratos lisados ou mesmo liofilizados. Dessa forma, espera-se que quando aplicado a pele, mesmo na forma liofilizada, possa desenvolver-se utilizando os nutrientes presentes na própria epiderme, como os fatores de hidratação natural, podendo exercer seus efeitos positivos. Já na preparação cosmética não deve crescer pois acidificaria o creme alterando sua estabilidade (ANDERSON, 2015).

REFERÊNCIAS

ANDERSON, Quinnye Kelly. Avaliação físico-química, organoléptica e microbiológica de nutricosmético produzido com *Lactobacillus acidophilus*. In: Encontro anual de iniciação científica, tecnológica e inovação, 1., 2015, Cascavel. Paraná: Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopeia Brasileira, volume 1 5ª Ed. Brasília, 2010.

ARCK, P. et al. Is there a 'gut-brain-skin axis'? **Exp Dermatol.** V.19. p.401-5.2010.

BRASIL. RDC n. 481, de 23 de setembro de 1999. Estabelece os parâmetros de controle microbiológico para os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes conforme anexo dessa Resolução. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 27 set. 1999. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 20/04/2018.

LERANOZ, S. Conservantes Cosméticos. **Offarm**. v. 21, p.74-78, 2002.

MARQUES, Mônica Ferreira *et al.* Análises microbiológicas de protetor solar manipulado nas farmácias magistrais do município de Ipatinga/MG. **Revista brasileira de farmácia**, v.90, n.2, p.137-143, mai, 2009.

RAMOS, Selma Verônica Vieira. Validação da metodologia analítica aplicada ao controle da qualidade microbiológica de formas farmacêuticas líquidas e determinação da eficácia de conservantes.2010. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco.

REBELLO, Tereza. Guia de produtos cosméticos. n. 6, p.161, 2005.

SANTOS, Victor Daniel de Salles. Desenvolvimento de uma formulação probiótica para a prevenção e tratamento da mastite em bovinos. 2015. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial na área de concentração de microbiologia aplicada) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

VASCONCELOS, Thalles Yuri *et al.* A inibição do sistema conservante de duas emulsões o/a por polissorbato 80. **Infarma ciências farmacêuticas**, v. 27, n. 4, p. 221-225, nov, 2015.

WILKINSON, J.B.; *et al.* Harry's Cosmeticology,n.7. 1982.

WOLF, Ronni. *et al.* Contact dermatitis to cosmetics. **Clinics in Dermatology**, v.19, p. 502-515, 2001.

FORMAÇÃO DE BIOFILMES POR LEVEDURAS PATOGENICAS

Izabel Almeida Alves

Farmacêutica (Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões- Santo Ângelo-RS). Doutora em Ciências Farmacêuticas (Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS). Docente das disciplinas Farmacologia, Farmacocinética, Microbiologia e Toxicologia. Curso de Farmácia. Departamento de Ciências da Saúde. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões. Campus de Santo Ângelo. Santo Ângelo, RS. Brasil.
E-mail: izabelalmeidaa@hotmail.com

Luciana Teresinha Adams Langer

Farmacêutica. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI). Campus de Santo Ângelo. Santo Ângelo, RS. Brasil.

Raiza Lima do Carmo

Farmacêutica. Mestranda do Programa Pós-Graduação em Ciências Médicas (Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS)

Keli Jaqueline Staudt

Farmacêutica. Mestranda do Programa Pós-Graduação em Ciências Médicas (Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS).

RESUMO: Objetivo: Realizar uma revisão sistemática apresentando alguns resultados de pesquisas contemporâneas sobre a formação de biofilmes por fungos leveduriformes. **Materiais e Métodos:** O trabalho caracteriza-se como uma revisão integrativa da literatura. As etapas

de realização desta revisão integrativa foram: definição da questão norteadora; seleção dos artigos para o estudo; elaboração do quadro sinóptico com as principais informações de cada artigo; análise dos achados de acordo com os critérios estabelecidos; apresentação dos resultados e conclusões. A busca pelos artigos foi realizada nas seguintes bases: SciELO, LILACS, Pubmed, Science Direct, Web of Science e Google Acadêmico. **Conclusão:** Percebe-se que os biofilmes leveduriformes são um potencial mecanismo de virulência de extrema importância, dada a sua incidência e sua difícil erradicação, visto o pequeno arsenal de antifúngicos disponível e a elevada resistência desenvolvida por estes microrganismos, o que torna necessária a busca por novas alternativas para o controle destas infecções.

PALAVRAS CHAVE: *Biofilmes; Antifúngicos; Candida spp.; Histoplasma spp.; Tricosporum spp.; Cryptococcus spp.*

ABSTRACT: Objective: The aim of the study was a systematic review presenting some results of contemporary research on biofilm formation by yeast-like fungi. **Materials and Methods:** This study was characterized as a literature integrative review. The stages of realization of this integrative review were: defining the research question; selection of items for the study; preparing the summary table with key

information of each article; analysis of findings according to established criteria; presentation of results and conclusions. The search for articles was conducted in the following databases: SciELO, LILACS and Google Scholar. **Conclusion:** It is noticed that the yeast biofilms are a potential virulence mechanism of extreme importance, given its impact and it's difficult to eradicate, because the small antifungal arsenal available and high resistance developed by these microorganisms, which makes it necessary to search for new alternatives to control the infection.

KEYWORDS: *Biofilms. Antifungals. Candida spp.. Histoplasma spp.. Trichosporon spp.. Cryptococcus spp..*

1 | INTRODUÇÃO

Durante muito tempo acreditava-se que microrganismos vivessem apenas de maneira planctônica, crescendo e circulando isoladamente em meios ricos nutricionalmente⁽¹⁾. No entanto, na década de cinquenta, descobriu-se que elas poderiam crescer em colônias estruturadas denominadas biofilmes⁽²⁾. Contudo, somente em 1970 é que mais estudos preocupados em identificar e entender a formação de biofilmes começaram a surgir de maneira a compreender essa forma de crescimento microbiano⁽³⁾.

Em geral, biofilmes são descritos como sendo uma matriz polimérica, aderida a uma superfície sólida, envolta das colônias, quase sempre imersa em meio líquido que é, essencialmente, constituída por um aglomerado de células microbianas e pelos seus produtos de excreção, substâncias poliméricas extracelulares (*extracellular polymeric substances - EPS*)⁽⁴⁻⁵⁾

Apesar de possuírem emprego benéfico em diversas áreas, os biofilmes têm causado danos à saúde e, cada vez mais, seu desenvolvimento revela ser causa de contaminação e infecções persistentes, principalmente nos setores de assistência à saúde⁽⁶⁾. Sua formação nestes locais corrobora para infecções graves em pacientes hospitalizados, sobre tudo no setor da unidade de terapia intensiva (UTI). Este fato se deve ao elevado número de procedimentos invasivos realizados e pelo comprometimento do sistema imune dos pacientes internados nesta unidade hospitalar⁽³⁾. Outra situação crítica envolvendo biofilmes em hospitais é o seu desenvolvimento em dispositivos médicos, como tubos traqueais, próteses e cateteres, entre outros⁽⁷⁾.

A incidência de infecções hospitalares causadas por fungos formadores de biofilme tem aumentado substancialmente, acarretando altos índices de mortalidade de até 60%. O gênero *Candida* tem sido frequentemente relacionado a formação de biofilme, pois correspondem a 80% das infecções fúngicas de origem hospitalar⁽⁸⁾. Também se destaca as leveduras dos gêneros *Cryptococcus*, *Trichosporon* e *Histoplasma*, todos com alto potencial de formação de biofilmes. Há grande dificuldade no tratamento das infecções causadas por estes microrganismos nesta forma de agrupamento, sendo que as cepas envolvidas nesta comunidade de biofilmes já apresentam resistência a

muitos dos agentes antifúngicos⁽⁹⁾.

A incidência de infecções nasocomiais fúngicas vem aumentando significativamente nos últimos anos. Vale ressaltar que muitos destes microrganismos se agrupam em biofilmes, conferindo maior patogenicidade às leveduras. Desta maneira o objetivo deste estudo foi realizado uma revisão sistemática apresentando alguns resultados de pesquisas contemporâneas sobre a formação de biofilmes por fungos leveduriformes.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho caracteriza-se como uma revisão integrativa da literatura incluindo a análise de artigos científicos mais relevantes publicados.

A busca pelos artigos foi realizada nas seguintes bases de dados eletrônicas: Scielo, Lilacs, Google acadêmico, Pubmed, Science Direct, Web of Science. A partir desta busca foram encontrados artigos científicos originais, artigos de revisão, dissertações de mestrado e tese de doutorado. Nas buscas, os seguintes descritores, em língua portuguesa e inglesa, foram considerados: *biofilmes*, *formação*, *revisão*, *leveduras*, *infecção*, *antifúngicos*, *Candida spp.*, *Histoplasma spp.*, *Tricosporum spp.*, *Cryptococcus spp.*.

Devido à grande quantidade de publicações relacionadas a biofilmes, mas não específicas da área da saúde, a busca foi preferida por estudos clínicos e pré-clínicos, dando prioridade àqueles publicados nos últimos dez anos. Referências dos primeiros artigos selecionados também foram utilizadas, nesse caso, não houve restrição quanto ao ano da publicação.

A seleção dos descritores utilizados no processo de revisão foi efetuada mediante consulta ao DECS (descritores de assunto em ciências da saúde da BIREME). Foram excluídos artigos com dados de publicação incompletos.

A análise dos artigos foi desenvolvida através de leitura e elaboração de um quadro sinóptico incluindo as seguintes informações: título, periódico, objetivo, metodologia, amostra, resultados e conclusão. A análise das informações encontradas foi realizada através de leitura comparativa entre os artigos e o resultado da análise deu origem ao texto apresentado neste trabalho de revisão.

3 | REVISÃO DA LITERATURA

Fungos frequentemente transitam entre o estilo de vida planctônica e o de biofilme⁽¹⁰⁾. Fenotipicamente, as células em um biofilme são distintas de células de flutuação livre. Sua alta tolerância a antifúngicos e capacidade de suportar as defesas do hospedeiro são duas características que promovem grande resiliência⁽⁹⁾. Infecções causadas por biofilme são particularmente difíceis de erradicar e a maioria dos antifúngicos disponíveis tem atividade mínima sobre os mesmos⁽¹⁰⁾.

3.1 Formação do biofilme

Estudos mostram a existência de quatro principais estágios de formação do biofilme: adesão primária, adesão irreversível, maturação e dispersão. A formação desta comunidade envolve a adesão primária dos microrganismos à qualquer superfície não esterilizada, que pode ser celular (bióticas) ou inanimada (abióticas)⁽¹¹⁾.

A fase inicial, também chamada de adesão reversível, necessita de mediação da interação entre as moléculas por ligações específicas do tipo ligante-receptor, já em superfícies inanimadas, a fixação é mediada por interações físico-químicas não específicas⁽¹²⁾.

Forças hidrodinâmicas, interações eletrostáticas, forças de Van der Waals e interações hidrofóbicas são as interações físico-químicas que garantem a fixação dos microrganismos às superfícies abióticas. Há ocorrência do transporte de células microbianas do meio aquoso até à superfície sólida por simples força gravitacional ou pelo direcionamento por motilidade e por quimiotaxia⁽¹¹⁾.

Existe a possibilidade das propriedades de uma superfície serem modificadas pela adsorção de um filme condicionante, sobre tudo, no caso de materiais biomédicos de propriedades plásticas, como próteses, tubos endotraqueais, cateteres venosos e arteriais, sondas e drenos. Este filme, geralmente, se constitui de proteínas, principalmente albumina, imunoglobulina e fibrinogênio. Com a superfície original alterada por esse condicionamento há possibilidade de maiores dificuldades no controle a adesão bacteriana em superfícies abióticas⁽¹¹⁾.

Quando é formada a primeira camada de microrganismos, a adesão de outros microrganismos é favorecida. A partir daí, ocorre o processo de adesão secundária, considerado irreversível, essa adesão ocorre por estruturas (hifas) e pela produção EPS⁽¹²⁾.

Posteriormente, se dá a multiplicação e a agregação de novos microrganismos, uns aos outros, em microcolônias, formando um biofilme maduro. Conforme a densidade aumenta, moléculas auto indutoras podem ser produzidas e induzir a transcrição de genes específicos que regulam várias funções como motilidade, virulência, produção de EPS e a formação de biofilmes⁽¹¹⁻¹³⁾.

Havendo condições favoráveis o desenvolvimento de um biofilme continua por um período relativamente longo de tempo. Porém, em situações desfavoráveis, o biofilme começa a sofrer o processo de desprendimento, onde ocorre a perda contínua de partes de biofilme, resultando na sua disseminação⁽¹²⁾.

3.2 Organização das colônias

A organização de um biofilme depende da natureza dos microrganismos presentes, da concentração de nutrientes, das propriedades hidrodinâmicas e presença de alguma força mecânica⁽¹⁴⁾.

Considera-se os EPS como responsáveis pela morfologia, estrutura, coesão

e integridade funcional do biofilme e sua composição determina a maioria das propriedades físico-químicas⁽¹²⁾.

Pode-se considerar essa matriz polimérica extracelular (EPS), como a principal responsável pela persistência das infecções relacionadas ao biofilme. Uma vez que, o torna mais resistente ao ataque de antimicrobianos e desinfetantes. Resistência acrescida à radiação UV, a desidratação e ao ataque de predadores como protozoários, também, são benefícios que essa matriz possibilita às leveduras⁽¹⁵⁾.

Um biofilme é considerado uma estrutura adsorvente e porosa por ser constituído essencialmente por água (cerca de 80 a 95%). Os microrganismos representam somente uma parte da massa de biofilme que, frequentemente, é menor que 10%. O emaranhado polimérico que envolve todas as células microbianas representa cerca de 70 a 95% da matéria orgânica da massa seca do biofilme⁽¹⁴⁻¹⁶⁾

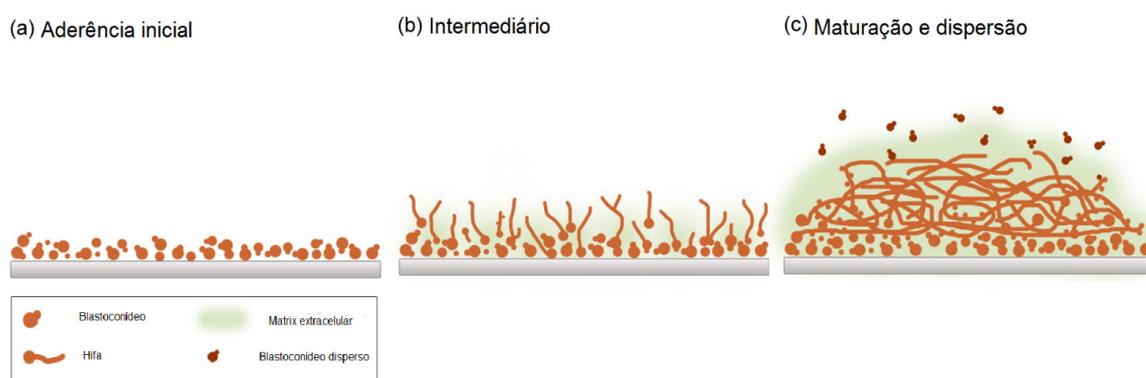


Figura 1: Modelo de desenvolvimento do biofilme de *Candida*: (a) fase inicial de aderência, em que a levedura em suspensão (células planctônicas) adere à superfície; (b) fase intermediária, explica o crescimento das colônias e a secreção inicial da matriz extracelular; (c) fase de maturação, em que a matriz extracelular absorve completamente todas as camadas de células aderidas à superfície em uma estrutura tridimensional. Após a maturação, os eventos de dispersão, quando as células mais superficiais deixam o biofilme e colonizar áreas que rodeiam a superfície, podem ocorrer. Adaptado de Vila e Rozental, 2016.

3.3 Infecções relacionadas a biofilmes

Biofilmes têm importância em várias atividades humanas. São empregados em numerosos bioprocessos, como tratamento de efluentes, por biorremediação, e até na produção de alguns alimentos⁽¹⁴⁾. Contudo, o crescimento não desejado dos biofilmes vem causando um impacto negativo em diversas situações⁽¹⁵⁾.

De acordo com Jesus (2013) isolados clínicos de levedura, apresentam capacidade maior de formar biofilme em comparação a isolados ambientais. Em vista disso, atualmente têm se dado destaque aos prejuízos que esses biofilmes podem causar em ambientes hospitalares. Estima-se que 80% das infecções humanas estejam associadas a biofilmes, especialmente aquelas que envolvem sistemas biomédicos, como cateteres, sondas, tubos endotraqueais e intraperitoneais, implantes cirúrgicos e próteses, entre outros⁽¹⁾. Anualmente mais de um milhão de casos de infecções nosocomiais estão associados ao uso destes tipos de sistemas⁽¹⁸⁾. Dentre os mais

propensos a infecções relacionadas à biofilmes estão os cateteres, implantes, próteses e válvulas cardíacas artificiais⁽⁷⁻¹⁰⁾.

Uma das características que distinguem as comunidades de biofilme é a sua capacidade para aderir à uma superfície. No ambiente médico, sistemas biomédicos de longa permanência, proporcionam um nicho ideal para a formação de biofilme⁽¹⁰⁾.

As células microbianas podem invadir os tecidos em contato com o dispositivo ou disseminar-se para a corrente sanguínea, ocasionando infecções sistêmicas. O desenvolvimento do biofilme depende do tipo e número de células que aderem ao dispositivo, do tipo de superfície que constitui o dispositivo e do meio ou fluido em que os microrganismos estão expostos. A aderência microbiana nesses materiais é a combinação de um meio líquido altamente nutrido e o material de que são fabricados⁽⁷⁻⁹⁾.

A relevância clínica de biofilmes em superfícies bióticas tornou-se cada vez mais estudada, visto que, estas infecções possuem elevada gravidade, resultando tanto na inefetividade do dispositivo, como aumento da morbimortalidade⁽¹⁰⁾.

Dentre todos os setores hospitalares a UTI é mais suscetível a infecções deste tipo, principalmente pela realização constante de procedimentos invasivos, concomitante uso destes materiais implantados e condições imunológicas comprometida dos pacientes⁽¹⁰⁻¹¹⁾.

Nas UTIs dos Estados Unidos são utilizados aproximadamente 15 milhões de cateteres venosos centrais (CVCs) por ano. As leveduras foram a segunda maior causa de colonização de CVC e a terceira maior causa de infecção sanguínea relacionada a seu uso⁽⁸⁾. As infecções de corrente sanguínea (ICSS) apresentam impacto significativo na morbidade e na mortalidade, sendo responsáveis por 10% a 20% das infecções hospitalares⁽¹⁹⁾.

A elucidação dos mecanismos de resistência em biofilmes é o primeiro passo para a otimização das terapias, ora pelo uso de terapias antifúngicas clássicas como, por exemplo, o bloqueio do dispositivo com antimicrobianos/antissépticos e o uso de dispositivos impregnados com antibióticos, ou pelo emprego de terapias com combinação de fármacos, biocidas ou fitofármacos⁽²⁰⁾.

3.4 Principais fungos leveduriformes formadores de biofilmes

As leveduras podem ser caracterizadas como fungos oportunistas responsáveis pela maior parte das infecções fúngicas nos seres humanos. A incidência de infecções causadas por leveduras, na última década, sofreu um grande aumento, especialmente em paciente imunocomprometidos⁽²¹⁾. Pode-se destacar os seguintes gêneros altamente relacionados a infecções nasocomiais decorrentes de biofilmes:

3.4.1 *Candida spp.*

Recentes levantamentos demonstram que a formação de biofilmes está associada a 90% das infecções de *Candida* relacionadas com o uso de cateteres por pacientes

hospitalizados⁽²²⁾.

A *Candida albicans* é considerada uma das leveduras mais patogênicas para o ser humano, causando um grande número de infecções oportunistas, que em imunocomprometidos podem ser fatais. Estes pacientes apresentam com frequência infecções nas mucosas, principalmente candidíases vaginais e orais, podendo evoluir para infecções sistêmicas⁽⁹⁾.

Este gênero é responsável por cerca de 60% das infecções fúngicas de origem hospitalar, sendo a quarta causa de infecção de corrente sanguínea, precedida apenas pela *Staphylococcus* coagulase-negativa, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus*, levando a óbito em torno de 35% dos pacientes que desenvolvem candidemia⁽⁹⁻²³⁻²⁴⁾.

A *Candida glabrata* é a segunda levedura mais frequentemente isolada da microbiota dos seres humanos. Esta levedura tem uma importância particular pois possui resistência intrínseca a agentes antifúngicos, principalmente os azólicos, como fluconazol, voriconazol, itraconazol. Fatores como o uso de antibióticos de amplo espectro, cateter venoso central, problemas renais, nutrição parenterais e pacientes em unidades de terapia intensiva são relatados como importantes fatores para infecção por *C. glabrata*⁽²⁵⁾.

A terceira espécie de maior importância, *Candida tropicalis*, é considerada como espécie mais comumente envolvida em candidemia, especialmente em pacientes oncológicos. Além disso, o crescimento da incidência de *C. tropicalis* como agente causador de infecções hospitalares no trato urinário e infecções neonatais vem sendo amplamente reportado⁽²⁵⁻²⁶⁾. *C. tropicalis* é tão virulenta e patogênica quanto *C. albicans*, além disso, resistência ao fluconazol, voriconazol, itraconazol e fluocitosina está relacionada ao biofilme desta espécie⁽²⁵⁾.

Os processos infecciosos causados por este gênero são favorecidos pela ruptura do equilíbrio entre o parasita-hospedeiro. Contudo, aderência, polimorfismo, variabilidade fenotípica, produção de enzimas extracelulares e toxinas constituem os principais fatores que conferem, ao fungo, a habilidade de formar biofilme e posteriormente infecções⁽²⁷⁾.

As células de leveduras do gênero *Candida* podem se aderir em diversos tipos de células do hospedeiro, como epiteliais, endoteliais e fagocíticas. Logo, um dos principais mecanismos de virulência é a sua versatilidade de adaptação, e capacidade de adesão em sítios variados⁽²³⁻²⁴⁾. A adesão a superfície celular do hospedeiro é influenciada pela disponibilidade de carboidratos, pH, temperatura, produção das enzimas extracelulares⁽⁸⁾.

Com isto, a habilidade em formar biofilme sobre as células do hospedeiro é uma característica marcante deste patógeno. O mecanismo de aderência envolve glicoproteínas, proteínas do tipo lectinas que apresentam a capacidade de identificar vários tipos de açúcares e receptores para a fração C3b do sistema complemento. Por parte do hospedeiro, receptores celulares para as adesinas de *Candida* como: fibrina, fibronectina e laminina, que favorecem a colonização da matriz extracelular⁽²⁷⁾.

Experimentos realizados no Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares Associadas de São Paulo, demonstraram que a formação de um biofilme de *Candida* pode se dar em aproximadamente 24 a 48 horas. Na fase inicial, a célula planctônica na forma de levedura adere na superfície do substrato, de forma aleatória ou atraída por uma quimiotaxia. Após a aproximação das células, existe uma interação destas com a superfície sendo hidrofóbica e eletrostática⁽¹⁰⁻²⁴⁾. Na fase secundária, as células proliferam formando microcolônias, e começam a produzir a matriz extracelular. Neste momento ocorre comunicação intercelular que leva a uma expressão diferencial de genes. Esses genes são responsáveis na transição de leveduras para hifas, na arquitetura da parede celular e na coesividade do biofilme dada pela matriz⁽²³⁻²⁴⁾.

Ao final, quando as células começam a se confluírem, a rede formada começa a ser constituída de uma transição de células diferenciadas em pseudohifas, hifas e leveduras, envolvidas na matriz extracelular polimérica, resultando em um crescimento tridimensional⁽²⁴⁾. A maioria das infecções causadas por *Candida* na forma de biofilme evoluem para um quadro de disseminação na corrente sanguínea (candemia), podendo ocasionar a morte do paciente.

3.4.2 *Cryptococcus spp.*

A importância do gênero *Cryptococcus spp.* aumentou drasticamente na década de 80, em consequência da epidemia acarretada pelo HIV - *Human Immunodeficiency Virus*. Estimativas sugerem que, por ano, cerca de 1 milhão de indivíduos portadores do HIV desenvolvem criptococose, dos quais 600 mil casos são fatais⁽²³⁾.

O desenvolvimento do biofilme de *C. neoformans* no hospedeiro pode ocorrer inicialmente, pela inalação de propágulos que atingem os alvéolos pulmonares onde são capazes de se proliferar. Caso o fungo não seja erradicado pelo sistema imune do hospedeiro, a infecção pode tornar-se latente pela contenção do patógeno em granulomas, podendo ser reativada ou evoluir para a forma aguda da doença⁽²¹⁾.

C. neoformans, pode, ainda, sobreviver e multiplicar-se no interior de macrófagos. A persistência deste fungo no interior de células fagocíticas facilita sua disseminação, uma vez que macrófagos alveolares contendo leveduras em seu interior podem translocar-se do pulmão para outros órgãos. Podendo resultar na forma mais grave da infecção por *C. neoformans*, que ocorre quando as leveduras atingem o sistema nervoso central (SNC) ocasionando a meningoencefalite⁽²³⁾.

O *C. gatti* (sorotipos B e C) é uma levedura também patogênica relacionada com infecções em pacientes imunocompetentes, que se difere do *C. neoformans* por esta característica e por ocorrer primariamente em regiões subtropicais. É considerado o agente etiológico de pneumonia fúngica e algumas formas de meningite basal e criptococose⁽²³⁾.

A patogenicidade dos isolados de *Cryptococcus* é baseada na expressão de fatores de virulência, que são componentes estruturais e moleculares diretamente

envolvidos no estabelecimento e manutenção da infecção, e que possibilitam a invasão e permanência do fungo nos tecidos e células, bem como a modulação do sistema imune do hospedeiro⁽²¹⁾.

Um experimento demonstrou que as melhores condições para a formação de biofilme criptocócico ocorre entre 25-37° C, pH neutro e tensão de CO₂ ambiente. De maneira geral, isolados de *C. gatti* tem capacidade de produzir biofilme de maneira mais intensa quando comparados aos isolados de *C. neoformans*. Outros estudos reforçam que o biofilme criptocócico são menos suscetíveis à antifúngicos como anfotericina B, caspofungina, fluconazol e voriconazol⁽²⁸⁾.

Muitos autores têm demonstrado a capacidade de *Cryptococcus* produzir biofilme em materiais sintéticos como placas de poliestireno e itens prostéticos invasivos, além de cateteres de derivação ventriculoatrial⁽²¹⁾.

Martinez (2006) constatou que biofilmes de *Cryptococcus* spp. podem estar associados a válvulas cerebrais e tubos de derivação (shunts) utilizados para drenar o excesso de líquido.

3.4.3 *Trichosporun* spp.

As infecções causadas por fungos do gênero *Trichosporon* geralmente representam micoses superficiais, consideradas benignas e acomete, preferencialmente, o couro cabeludo, a axila e a região pubiana⁽²⁹⁾.

Trichosporon é caracterizado pela formação de artroconídios, blastoconídios, hifas e pseudo-hifas. Morfologicamente, as espécies patogênicas são muito semelhantes. A diferenciação, ainda hoje, é realizada em muitas instituições médicas com o emprego das técnicas convencionais de diagnóstico que, apesar do baixo custo, necessitam de tempo para serem realizadas⁽³⁰⁾

São muitos os fatores de virulência associados a este microrganismo, destacam-se: DNAses (que causa degradação do DNA celular), lipases, fosfolipases, proteases, urease e a capacidade de formar biofilme⁽³⁰⁻³¹⁻³²⁾. As espécies com maior capacidade de formar biofilme são *T. asahii* e *T. mucoides*, ressaltando-se a predominância de *T. asahii*⁽³³⁾.

Xavier et al., (2015) isolaram um total de 9 leveduras do gênero *Trichosporon*, obtidas somente de uroculturas, e constataram que 66,6% dos isolados foram capazes de produzir biofilmes em superfície de poliestireno, sendo fator importante na determinação de persistência da infecção em sistemas biomédicos.

3.4.4 *Histoplasma* spp.

A principal espécie representante do gênero *Histoplasma* é a espécie *H. capsulatum*. Esta apresenta três variações: *H. capsulatum* var. *capsulatum*, *H. capsulatum* var. *duboisii* e *H. capsulatum* var. *farcinosum*, sendo que somente as

variedades capsulatum e duboisii patogênicas humanas⁽³⁴⁾.

Rosinha (2013), através de um estudo epidemiológico, observou que, em pacientes com HIV no Ceará, a micose foi considerada a primeira manifestação da SIDA (síndrome da imunodeficiência adquirida), correspondendo a 38,9% dos casos. Em 85,8% dos pacientes, o patógeno isolado foi do gênero *Histoplasma*, todas as cepas analisadas demonstraram potencial em formar biofilme.

H. capsulatum é um fungo dimórfico e seu habitat natural é o solo, sobretudo solo enriquecido com fezes de pássaros e morcegos. Sua patogênese baseia-se no modo de transição para levedura, internalização nos fagócitos do hospedeiro, sobrevivência intracelular e proliferação durante a infecção clínica assintomática⁽³⁶⁾. A capacidade de crescer com morfologias distintas, também, proporciona a este microrganismo capacidade de se adaptar a diferentes condições de vida por expressar genes específicos⁽³⁴⁻³⁵⁾. Este é inicialmente adquirido pela inalação de microconídios ou fragmentos de hifas. Caso sobreviva e consiga se replicar nos macrófagos alveolares ocasiona infecção pulmonar, na qual pode disseminar para outros órgãos do sistema fagocítico mononuclear, principalmente baço e fígado. Também pode ocorrer migração para SNC, com a disseminação hematogênica para as meninges ou para o cérebro, resultando em uma meningite crônica⁽³⁶⁾.

Até o momento poucos fatores de virulência deste gênero, porém o que contribuem para a formação de biofilme são α (1-3 glucano), proteínas de choque térmico (HSPGO) e um polissacarídeo de parede celular⁽³⁴⁾.

3.5 Mecanismos gerais de resistência do biofilme aos antimicrobianos

Dentro de um biofilme os microrganismos necessitam de diferentes doses de antimicrobianos para sua inibição. Este fato acaba por conferir diferentes índices de resistência à ação dos fármacos dentro de uma mesma comunidade, assim, patógenos oportunistas conseguem permanecer como agentes infectantes por longo tempo⁽³⁾.

O biofilme constitui um local ideal para a troca de material genético facilitando a transferência horizontal de genes de resistência, bem como de transcrição de determinadas proteínas e enzimas que induzem ineficácia aos antimicrobianos usados na clínica⁽¹¹⁾.

Em culturas livres o transporte de solutos do meio líquido para as células, geralmente, é um processo rápido, quando, em agregados, esse fluxo é dificultado, dando-se por difusão pelos poros presentes no filme⁽¹⁵⁾. Outra limitação, dentro do biofilme, é a oferta de oxigênio, escassa em sua base⁽¹¹⁾. Essas dificuldades acabam fazendo com que a taxa metabólica e, conseqüentemente, o crescimento da população bacteriana sejam mais lentos. Dessa forma, muitos antimicrobianos tornam-se ineficientes, visto que geralmente estes agem na fase de crescimento exponencial do microrganismo, bem como síntese proteica, síntese de ácidos nucleicos e parede celular que os mesmos atuam⁽¹¹⁻¹⁵⁾.

A dificuldade de muitos agentes antimicrobianos infiltrar no biofilme tem se mostrado uma das principais causas de seu insucesso na tentativa de erradicar células bacterianas⁽³⁷⁾

Quando o biofilme é atacado por antimicrobianos, a maior parte da população é erradicada, mas uma fração de células latentes não é afetada, podendo ser, além de núcleo para reinfecção após o término da terapia caminho para desenvolvimento de células mais resistentes⁽¹¹⁾.

O principal responsável pela baixa penetração no meio é o EPS. Ele pode atuar como barreira física para difusão, retendo grande parte dos agentes antimicrobianos e, assim, reduzir a quantidade do mesmo para agir sobre as células ou interagir, quimicamente, com esses agentes, capturando antimicrobianos que são hidrofílicos e carregados positivamente⁽¹¹⁾.

As falhas no reconhecimento dos biofilmes pelo sistema imunológico também se fazem importantes na tentativa de erradicação dos microrganismos envolvidos no mesmo. Tendo em vista que as células sésseis estimulam produção de anticorpos pela liberação de antígeno, as leveduras sob forma de biofilmes impedirão reações imunológicas, celular e humoral⁽³⁸⁾. O que promove a ineficiência do sistema imune em combater os biofilmes também é o EPS, pois as células sinalizadoras não conseguem reconhecer os potenciais patógenos, assim, as células do interior do biofilme ficam protegidas contra a ação de anticorpos, radicais livres e outros compostos do sistema imunológico⁽¹¹⁾.

Estudos apontam que as células mononucleares do hospedeiro podem ficar aprisionadas no biofilme, não conseguindo fagocitar. Pode ocorrer até a incorporação de células do sistema imunológico no biofilme, inclusive aumentar o crescimento do mesmo⁽¹⁰⁾.

3.6 Eficácia e resistência dos antifúngicos frente a leveduras formadoras de biofilmes

Os antifúngicos disponíveis são menos eficazes contra biofilmes, tendo em vista que as suas concentrações devem ser até 1000 vezes superiores para inibir biofilme, em relação às células planctônicas⁽¹⁰⁾.

Desde 1970, a resistência antimicrobiana aumentou significativamente, em associação com várias mudanças na prática médica tais como a utilização de terapias que deprimem o sistema imunológico, emprego frequente e muitas vezes indiscriminado de agentes antimicrobianos, o uso comum de dispositivos intravenosos, e o surgimento de doenças crônicas imunossupressoras, levaram ao consequente aumento de infecções fúngicas⁽³⁹⁾. A seguir, estão relatadas as principais classes de antifúngicos disponíveis na atualidade e sua ação frente a infecções ocasionadas por biofilmes de leveduras.

3.6.1 Poliênicos

Os poliênicos são a primeira classe de antifúngicos descrita, cuja estrutura é macrocíclica e caracterizada por átomos de carbono divalentes dispostos em série, o que lhe confere a característica hidrofílica⁽⁴⁰⁾.

Fungos em fase estacionária do crescimento são os alvos desta classe, pois se unem por interações hidrofóbicas ao ergosterol, o esteroide predominante encontrado na membrana citoplasmática dos fungos. Com essa ligação são formadas estruturas que albergam no seu interior poros que modificam a permeabilidade da membrana e causando a morte celular por perda de nutrientes e íons essenciais. Os poliênicos também têm atividade oxidante sobre o metabolismo celular e certa capacidade imunoestimulante sobre o hospedeiro, por promover a liberação de citocinas pró-inflamatórias⁽²⁰⁾.

O representante desta classe com maior atividade sobre biofilmes é a anfotericina B que possui amplo espectro com eficácia demonstrada contra a maioria dos agentes de micoses sistêmicas (*Paracoccidioides*, *Histoplasma* e *Sporothrix*) e oportunistas (*Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus* e *Penicillium*), não possuindo atividade frente a *Trichosporon* spp⁽⁴¹⁾.

Emprega-se, normalmente, até 1 mg/kg/dia, quando em sua forma convencional, já as doses das formulações lipídicas podem variar de 3 a 6 mg/kg/dia para obtenção da mesma eficácia terapêutica, porém, a forma lipossomal, causa menor nefrotoxicidade, principal consequência da administração do fármaco⁽²⁰⁾. É um dos poucos fármacos que pode ser prescrito na gravidez⁽⁴²⁾.

Este valor pode variar quando se trata de células sésseis. Em uma análise, a terapia contínua com 4 µg/ml de anfotericina B resultou em mais de 50% de inibição das células do biofilme de *Candida albicans*⁽⁴³⁾. Contudo, Carvalho (2013), em seus experimentos precisou usar uma concentração de 16 a 256 vezes maior de anfotericina B para conseguir erradicar a colônia do biofilme. Já outro experimento realizado pela Universidade Federal do Espírito Santo verificou que este fármaco inibiu a formação de biofilme apenas na concentração de 128 µg/ml para *Candida albicans*⁽⁴³⁾.

Segundo um estudo que testou CIM (concentração inibitória mínima), em células sésseis e planctônicas do gênero *Candida*, existe um pequeno número de células responsáveis pela resistência a este fármaco, chamadas células persisters⁽²²⁾. Estas células ocupam entre 0,1 a 1% da população do biofilme e continuam células viáveis mesmo na presença de altas concentrações de antifúngicos⁽⁴⁵⁾.

Como a anfotericina B é eficaz contra este gênero, esperaria-se que quanto maior a concentração do fármaco, menor seria a quantidade de células viáveis no biofilme. Entretanto, em *C. albicans* existem alguns relatos em que não ocorre redução de células. Isto pode ocorrer pelo aumento da produção de ergosterol sob condições de estresse. Pode-se concluir que a Anfotericina B é eficaz em biofilmes, embora dependa da concentração e da espécie, não podendo ser definido um valor de CIM

para erradicar a levedura em biofilmes⁽⁴⁵⁾.

3.6.2 Azólicos

Os azólicos são compostos sintéticos heterocíclicos, difundem-se facilmente tecidos infectados devido a sua apolaridade, são subdivididos em imidazóis e triazóis com base no número de nitrogênios presentes no anel azol, resultando, esta diferença, em diferentes afinidades de ligação do fármaco ao sistema enzimático citocromo P-450 fúngico⁽⁴²⁾.

Os azóis, atuam, inibindo, de forma não competitiva e reversível, enzimas que participam das etapas finais da biossíntese do ergosterol, levando a um acúmulo de precursores que substituem o ergosterol na membrana celular gerando modificações na permeabilidade da membrana fúngica, o que inibe o crescimento fúngico, exercendo efeito fungistático⁽⁴⁰⁾. Essa é uma classe que atua na maioria dos fungos que causam micoses superficiais, cutâneas, subcutâneas, profundas e oportunistas como: *Malassezia*, dermatófitos, *Paracoccidioides*, *Histoplasma*, *Coccidioides*, *Blastomyces*, *Candida* e *Cryptococcus*⁽⁴²⁾.

A alta incidência de infecções fúngicas, em sua maioria na forma de biofilme, em pacientes imunocomprometidos gerou o uso indiscriminado de azóis por via sistêmica, de forma profilática ou terapêutica, que vem aumentando a resistência dos fungos a estes agentes⁽⁴⁶⁾. Os antifúngicos mais usados para o tratamento de biofilmes desta classe são, fluconazol, voriconazol, posaconazol e ravuconazol.

O fluconazol por ser hidrossolúvel tem absorção oral independente do pH, se liga pouco a proteínas plasmáticas (11%), é excretada quase que totalmente por via renal e tem boa penetração tecidual, inclusive do sistema nervoso central. Logo, é um triazol de primeira escolha para o tratamento de biofilmes de leveduras causadoras neurocriptococose e Candidíase oral, esofágica e vaginal⁽⁴⁶⁾.

O voriconazol possui potente ação e largo espectro *in vitro*, inibe a enzima 14 alfa-desmetilase, essencial para a síntese do ergosterol, segundo Nobre et al; (2002), este é ativo *in vitro* contra *Aspergilos* sp e *Candida* sp⁽⁴⁰⁾. Em um estudo, que avaliou o papel da matriz de biofilmes de *Candida glabrata* na sua resistência ao voriconazol, observou-se substancial resistência ao fármaco por parte dos biofilmes, o que não foi verificado em células plantônicas. Houve o aumento da produção de polissacarídeos e ergosterol. O que pode ser uma das respostas para o aumento da resistência a este fármaco⁽²²⁾.

Já, resultados de uma análise da viabilidade celular dos biofilmes de *Candida* ssp. mostraram que concentrações mais baixas de voriconazol (até 100 µg/ml) não tiveram efeito na viabilidade celular em comparação com a biofilmes do controle positivo. As concentrações mais altas (≥200 µg/ml) provocaram diminuição significativa da viabilidade celular dos biofilmes. Contudo, em nenhum caso foi verificada a ausência total de biofilme⁽²²⁾.

Ravuconazol e posaconazol são derivados triazóis de última geração apresentam *in vitro* um largo espectro de atividade, particularmente contra biofilmes das espécies de *Candida*⁽⁴⁷⁾.

O gênero *Trichosporon* spp. apresenta sensibilidade limitada a diferentes antifúngicos, sendo a classe dos azólicos, a primeira linha de escolha para o tratamento dessas infecções⁽⁴⁶⁾. As células planctônicas apresentam sensibilidade ao fluconazol e ao voriconazol, sendo este último o que apresenta uma melhor atividade *in vitro*, já em células formadoras de biofilme o voriconazol pode ser até 1000 vezes menos eficaz⁽³¹⁾.

De maneira geral os azólicos demonstram-se eficazes na inibição do biofilme. Cabe ressaltar, que a efetividade do tratamento é maior nas primeiras fases de formação do biofilme, que ocorre antes de 48 horas. Gonçalves (2013) mostrou que após a maturação, não se observa células sésseis sensíveis a esta classe de antifúngicos.

3.6.3 Equinocandinas

A partir de 2001, com os avanços na terapia antifúngica e na tentativa de diminuir seus efeitos adversos, novos representantes foram colocados no mercado, como as equinocandinas, classe mais recente de antifúngicos aprovados pela FDA (Food and Drug Administration). Atualmente, as equinocandinas representam um importante grupo de fármacos na terapia intravenosa de candidíase superficial e invasiva, provocada por biofilme. As mais utilizadas são caspofugina, micafugina e anidulafungina⁽⁴⁷⁾.

Equinocandinas inibem de forma não competitiva e irreversível a enzima (1,3)- β -D-glicano sintase, necessária à síntese do (1,3)- β -D-glucano. A produção insuficiente desse polissacarídeo resulta em danos na estrutura e integridade da parede celular, impedindo o crescimento das células fúngicas e, conseqüentemente, provocando a morte do microrganismo⁽²⁰⁾. Todos os fármacos do grupo das equinocandinas, de modo geral, apresentam espectro de ação semelhante, o que se aplica também para biofilmes⁽⁴⁸⁾.

Por apresentarem este mecanismo de ação, as equinocandinas demonstram um amplo espectro de ação e alta potência. Embora não se tenha total padronização, estes fármacos se mostram *in vitro*, fungicidas para a maioria das espécies de *Candida*, incluindo aquelas resistentes a classe dos azólicos⁽⁴⁹⁾.

As equinocandinas, não são indicadas para o tratamento de infecções causadas por *C. neoformans*, *Trichosporon* spp., e *H. capsulatum*, devido principalmente ao baixo teor de glucano na parede celular dessas espécies⁽⁴⁷⁾. A suscetibilidade de cepas do gênero *Candida* foram estudadas em 117 isolados, observou-se que as células planctônicas possuem alta sensibilidade a caspofungina de 8 μ g/mL, contudo, em biofilmes houve aumento de 200 vezes do CIM para este fármaco (LIMA, 2014). Já, Peman *et al.* (2008) observaram a CIM para biofilmes de *Candida* ssp. de 1,18 μ g/ml frente a anidulafungina.

3.7 Importância clínica da resistência e novas alternativas

Suzuki (2009) constatou que pode haver até 80 % da redução da efetividade de agentes antimicrobianos no combate as leveduras, devido, principalmente, a difícil penetração e difusão dos mesmos no biofilme, relatando ser este um dos fatores de resistência. Bombas de efluxo, também, são um importante mecanismo de resistência, pois permite o efluxo de antifúngico da célula, sendo um mecanismo muito mais eficiente em células sésseis que em planctônicas⁽²²⁾.

Em 2010, um estudo que examinou os efeitos da taxa de crescimento e limitação de nutrientes em relação à resistência a antifúngicos em biofilmes de *Candida spp.*, indicou que a resistência aos fármacos coincide com a maturação do biofilme. Pois, a expressão dos genes que codificam as bombas de efluxo foi encontrada durante diferentes fases de desenvolvimento de biofilme. Adicionalmente, análises revelaram que os níveis de ergosterol, são significativamente diminuídos nas fases intermediárias e maduras de crescimento de biofilme em comparação com as fases iniciais de desenvolvimento⁽⁵⁰⁾.

Adensidade celular é apontada como um fator de resistência antifúngica importante em biofilmes, particularmente para os azóis, tornando-se cada vez mais resistentes com o aumento da densidade⁽²²⁾. Andes *et al.* (2015) observaram a existência de moléculas de Quorum Sensing (QS) em leveduras do gênero *candida* semelhantes às descritas nos biofilmes bacterianos. O papel principal do QS é coordenar a expressão de determinados genes para regulação da densidade populacional, levando à coordenação de atividades biológicas na população, tais como simbiose, motilidade, esporulação, acasalamento, entre outras⁽²³⁾.

Tomadas em conjunto, todas estas observações reforçam a ideia de que a resistência do biofilme é um fenômeno complexo e multifatorial⁽⁵⁰⁾. Em relação aos biofilmes, de modo geral, estudos clínicos, demonstram maior resistência aos azólicos, enquanto as equinocandinas e anfotericina B, são mais eficazes. ⁽¹⁰⁻⁴²⁾

As alilaminas e as formulações poliênicas não vêm apresentando atividade totalmente satisfatória contra biofilmes fúngicos. Para superar a ineficácia dessas drogas, alguns pesquisadores têm se dedicado em avaliar o efeito sinérgico entre várias classes de medicamentos, como antifúngicos, antibacterianos, analgésicos, imunossupressores, entre outros⁽⁵¹⁾ (COSTA 2009). Temos como exemplos dessas combinações: associação entre fluconazol e doxiciclina, combinação entre anfotericina B e aspirina, combinação de caspofungina e o diclofenaco e a sensibilidade de biofilmes de *C. albicans* a diferentes antifúngicos e o medicamento imunossupressor ciclosporina⁽⁴⁷⁾.

Outros estudos mostram a eficácia da combinação de inibidores de calcineurina e fluconazol para tratamento de biofilmes de *C. albicans* e *Trichosporon spp.*. Inibidores da calcineurina potencializam também a atividade de outros agentes antifúngicos, incluindo as equinocandinas e anfotericina B. O sucesso desta combinação se dá pela redução

da capacidade da matriz (EPS) em sequestrar o antifúngico⁽²⁰⁾.

Mourão (2012) verificou que concentrações subinibitórias de antibióticos como Sulfametoxazol-Trimetoprim e Sulfadiazina-Pirimetamina foram capazes de reduzir a capacidade de formação e manutenção de biofilme de cepas de *C. neoformans*.

A interação entre anfotericina B e fármacos antibacterianos, como a rifampicina e a tetraciclina também vem sendo estudada em testes *in vitro*. A avaliação atividade *in vitro* de anfotericina B combinada à rifampicina e à doxiciclina contra biofilmes de espécies de *Candida*, demonstrando a redução dos valores de CIM do antifúngico. Provavelmente este resultado foi dado pela ligação da anfotericina B e esteróis da membrana celular fúngica, aumentando sua permeabilidade, permitindo a entrada das drogas com a subsequente interferência da síntese do RNA pela rifampicina e a síntese proteica pela doxiciclina⁽²⁰⁾.

O uso de biocidas, também, tem se mostrado método efetivo para evitar a formação dos biofilmes. Resultados encorajadores foram observados *in vitro* com o uso de etanol e ácido etilenodiaminotetra-acético (EDTA)⁽⁴⁸⁾.

A resistência dos biofilmes é preocupante e requer não somente a pesquisa para o desenvolvimento de novas substâncias, mas também o desenvolvimento de novas abordagens para o tratamento dessas infecções. Pode-se observar que é pequeno o número de agentes farmacológicos para tratamentos antifúngicos quando comparado ao de antibióticos, caminha-se para a descoberta de antifúngicos que apresentem maior espectro de ação, baixo custo e menor índice de resistência antifúngica⁽³¹⁻⁵²⁾.

A abordagem utilizada para descobrimento de novas alternativas é a de determinar os mecanismos que conduzem a resistência à droga e identificar ou desenvolver um agente anti-infeccioso, que interrompa o processo espécie⁽¹⁰⁾.

Cada vez mais, produtos naturais vêm atraindo interesses científicos, devido a suas propriedades antifúngicas. Essas pesquisas podem conduzir ao desenvolvimento de drogas efetivas contra muitos fungos patogênicos. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) mais de 80% da população mundial usa medicamentos tradicionais para tratar suas doenças, sendo a maioria oriundos de plantas e/ou seus produtos. Os compostos como alcalóides, taninos, flavonóides, proteína, peptídeos, glicoproteínas, ácidos fenólicos e os óleos essenciais apresentam atividade considerada contra fungos⁽³⁹⁾.

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente artigo de revisão traz uma abordagem atual sobre biofilmes produzidos por leveduras, bem como apresenta as principais espécies que o compõem, destacando-se o gênero *Candida*, sobre o qual se baseiam a maioria dos estudos, precedida dos gêneros *Cryptococcus*, *Tricosporun* e *Histoplasma*, respectivamente.

Constatou-se a capacidade dos biofilmes em causar infecções de difícil tratamento,

seja pelas vantagens e resistência que a forma de agrupamento lhes proporciona, seja pelo pequeno e muitas vezes ineficaz arsenal farmacológico disponível para combatê-los.

Há promissoras combinações e novas abordagens para o tratamento dos biofilmes leveduriformes. Contudo, percebe-se a necessidade de muito mais empenho no desenvolvimento de tratamentos, devido sua problemática. Espera-se que através da compreensão dos mecanismos de seu desenvolvimento, resistência, microrganismos envolvidos e tratamentos, relatados nesta revisão, tenha-se colaborado para tanto.

REFERENCIAL

1. Magalhães JNMP. **Importância da formação de biofilmes nas infecções associadas a próteses ortopédicas**. Dissertação [Mestrado em Ciências Farmacêuticas]. Porto: Universidade Fernando Pessoa; 2011.
2. Winkelströter LK. **Análise da expressão gênica, formação de biofilmes e adesão/invasão a célula Caco-2 por *Listeria monocytogenes* em diferentes condições encontradas no trato gastrointestinal, em alimentos e em presença de bacteriocinas**. Tese [Doutorado em Ciências]. Ribeirão Preto: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto; 2012.
3. Culler HF. **Formação de biofilme por *Escherichia coli* enteropatógena atípica**. Dissertação [Mestrado em Biotecnologia]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2010.
4. BARROS MFL. Avaliação da formação de biofilme e resistência antimicrobiana por cepas de ***Staphylococcus epidermidis*** isolados de hemoculturas em hospitais públicos da cidade do Rio de Janeiro. Dissertação [Mestrado em Microbiologia e Parasitologia]. Niterói: Universidade Federal Fluminense; 2009.
5. Sutherland IW. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. **Microbiology**, 2001 jan.; 147(1):3-9.
6. PADOVEZE, M.C. **Biofilme: o inimigo invisível**, Parte I. 2013.
7. Negri M, Regini JRR, Silva HR. Biofilme: ameaça invisível em ambientes cirúrgicos. **BJSCR**. 2013 nov.; 4(1):43-8.
8. Doria ACOC, Santos TB, Figueira FR, Sorge CPC, Bernardes RC, Batista ACS, Khouri S. Estudo comparativo de hemoculturas e cateteres positivos para leveduras do gênero *Candida* de origem hospitalar. **Revista Univap**. 2015 dez.; 21(38):46-55.
9. Cardoso BC. **Efeito de antifúngicos em suspensões e biofilmes de *Candida albicans* e *Candida dubliniensis***. Dissertação [Mestrado em Engenharia de Bioprocessos]. Braga: Universidade do Minho; 2004.
10. Janiel EN, Andes D. Fungal Biofilms: In vivo models for discovery of anti-biofilm drugs. **Rev. Microbiol Spectr**. 2015 jun.; 3(5):1-25.

11. Giordani RB, Macedo AJ, Trentin DS. Biofilmes bacterianos patogênicos: aspectos gerais, importância clínica e estratégias de combate. *Revista Liberato*. 2013 dez.; 14(22):113-238.
12. Araújo NT, Bisson MR, Freitas BVL. “Biofilmes bacterianos e sua atuação na infecção hospitalar”. Monografia [Conclusão do curso de Biomedicina]. Ribeirão Preto: Centro Universitário Barão de Mauá; 2013.
13. Conrado IM. **Bactérias e as suas redes sociais**. Dissertação [Mestrado em Ciências Farmacêuticas]. Porto: Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa; 2013.
14. Peres BM. **Bactérias indicadoras e patogênicas em biofilmes de sistemas de tratamento de água, sistemas contaminados e esgoto**. Dissertação [Mestrado em Ciências]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2011.
15. Xavier JB, Piciooreanu C, Almeida JS, Loosdrecht MCM. Monitorização e modelação da estrutura de biofilme. **Boletim de Biotecnologia**. 2015 Nov; [s.v]([s.n]):2-13.
16. Machado SMO. **Avaliação do efeito antimicrobiano do surfactante cloreto de benzalcônio no controlo da formação de biofilmes indesejáveis**. Dissertação [Mestrado em Tecnologia do Ambiente]. Braga: Escola de Engenharia da Universidade do Minho; 2005.
17. Jesus R. **Avaliação da formação de biofilme de fungos emergente sua suscetibilidade a antigúngicos na forma livre e nanoencapsulada**. Dissertação [Mestrado em Microbiologia do Ambiente]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2013.
18. Andrade D, Santos APA, Watanabe E. Biofilme em marca-passo artificial: ficção ou realidade? *Arq. Bras. Cardiol*. 2011 nov.; 97(5):113-120.
19. Corrêa KLG, Almeida GMD, Almeida JNJ, Rossi F. Diferença de tempo de positividade: método útil no diagnóstico de infecção de corrente sanguínea relacionada com cateter. **J Bras Patol Med Lab**. 2012 jun.; 48(3):195-202.
20. Marques FJ. **Efeito inibitório de drogas antituberculose frente à *histoplasma capsulatum var. capsulatum e cryptococcus spp.*: síntese de análogos químicos, atividade antifúngica in vitro e mecanismo de ação**. Dissertação [Doutorado em Microbiologia Médica]. Fortaleza: Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará; 2013.
21. Mourão CI. **Effect of folate on growth inhibitors, antifungal sensitivity and virulence factors of strains of *Cryptococcus neoformans***. Dissertação [Pós-graduação em Ciências Médicas]. Ceará: Universidade Federal do Ceará Faculdade de Medicina; 2010.
22. Gonçalves BF. **Avaliação do papel da matriz de biofilmes de *Candida glabrata* na sua resistência ao voriconazol**. Dissertação [Mestrado em Engenharia Biológica]. Braga: Universidade do Minho; 2013.
23. Derengowski LS. **Caracterização da resposta de fungos patogênicos a diferentes condições de interação intra e inter-reinos**. Tese [Doutorado em Biologia Molecular]. Brasília: Universidade de Brasília; 2011.
24. Suzuki LC. **Desenvolvimento de biofilme formado por *Candida albicans* in vitro para estudo da terapia fotodinâmica**. Dissertação [Mestrado em Ciências na área de Tecnologia Nuclear]. São Paulo: Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares Associada à Universidade

de São Paulo; 2009.

25. Teodoro GR. **Avaliação da atividade antifúngica dos extratos de buchenavia tomentosa sobre *Cândida***. Dissertação [Mestrado em Biopatologia bucal]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos da Universidade Estadual Paulista; 2011.
26. Mohammed AA, Douglas LJ. Biofilm matrix of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*: chemical composition and role in drug resistance. **Journal of Medical Microbiology**. 2013; [s. e.](55):999–1008.
27. Menezes ACS, Ribeiro EL, Santana DP, Naves PLF. Novas abordagens sobre os fatores de virulência de *Candida albicans*. **Rev. de Ciências Médicas e Biológicas**. 2013 ago.; 12(2):229-233.
28. Gomes FS, Pessoa CCB, Silva SHM. Production of virulence factors *in vitro* by isolates of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* of clinical origin in Belém, Pará State, Brazil. **Rev Pan-Amaz Saude**. 2012 jun.; 3(2):59-65.
29. Santin R. **Isolation, identification and in vitro susceptibility test of yeasts from oral cavity of female canine**. Dissertação [Mestrado em Veterinária]. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas; 2009.
30. Bentubo HD, Gambale HD, Fischman O. Caracterização laboratorial e comportamento cromogênico de leveduras do gênero *Trichosporon*. **Rev. Bras. Pesq. Saúde**. 2013; 1(15):69-74.
31. Iturrieta-gonzalez I. Evaluation of the biofilm production of *Trichosporon* spp. clinical isolates and its susceptibility against triazoles. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci**. 2013. [s.v] ([s.n.):125.
32. Mattei AS, Madrid IM, Santin R, Schuch LFD. Antifungal effect of chemical agents in yeasts with pathogenic potential isolated from veterinary hospital environment. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci**. 2013; 50(4):294-299.
33. Bentubo HD. **Leveduras do gênero *trichosporon*: aspectos ecológicos, caracterização laboratorial, fatores associados á virulência e suscetibilidade a antifúngicos**. Dissertação [Mestrado em Microbiologia]. São Paulo: Faculdade de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2008.
34. Pitangui NS. **Análise proteômica diferencial do biofilme de *histoplasma capsulatum* e implicações na interação fungo-hospedeiro**. Dissertação [Mestrado em Biociências e Biotecnologia]. Araraquara: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista; 2012.
35. Rosinha MY. **Desenvolvimento de protótipos antifúngicos contra biofilmes de *Histoplasma capsulatum***. Monografia [Conclusão do curso em Farmácia-Bioquímica]. Araraquara: Universidade Estadual Paulista; 2013.
36. Ribeiro JF. ***Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*: taxa de conversão in vitro, detecção de gene *ryp1* e estudo da diversidade genética de cepas brasileiras**. Tese [Doutorado em Microbiologia Médica]. Fortaleza: Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará; 2012.

37. Melo PC. **Estudo fenotípico e genotípico da produção de biofilmes por estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas dos casos de mastite subclínica bovina.** Dissertação [Mestrado em Medicina Veterinária]. Jaboticabal Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; 2008.
38. Bierhals CG. **Análise da formação de biofilme por isolados clínicos e caracterização genotípica do gene *wspR* de *Acinetobacter* spp.** Monografia [Conclusão de Curso de Farmácia]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2010.
39. Silva AR. **Avaliação in vitro da berberina frente às cepas de *Candida* spp. e *Cryptococcus neoformans* resistentes ao fluconazol e sua atividade em isolados formadores de biofilme.** Dissertação [Mestrado em Microbiologia Médica]. Fortaleza: Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará; 2015.
40. Nobre MO. Drogas antifúngicas para pequenos e grandes animais. **Ciência Rural.** 2002; 32(1):175-184.
41. Filippin FB, Souza LC. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.** 2006 abr./jun.; 42(2):167-194.
42. Giacobino J. **Caracterização fenotípica e molecular das espécies fúngicas causadoras de peritonites em pacientes submetidos à diálise peritoneal ambulatorial contínua do Hospital das Clínicas da UNESP, Botucatu.** Dissertação [Mestrado em Biologia Geral e Aplicada, área de concentração Biologia de Parasitas e Micro-organismos Instituto de Biociências]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2013.
43. Ribeiro AD. **Ocorrência de infecção nosocomial por *Candida* spp. no Hospital Universitário Cassiano Antonio de Moraes e avaliação das drogas anfotericina b e voriconazol na inibição de formação de biofilme pelas espécies isoladas.** Dissertação [Mestrado em Doenças Infecciosas]. Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo; 2013.
44. Carvalho RR. **Biofilmes e suspensões celulares de *Candida* spp. isoladas de ambiente hospitalar: efeitos de antifúngicos sintéticos e bioativos vegetais.** Dissertação [Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas]. Minas Gerais: Universidade Federal de Alfenas; 2013.
45. Ferraz DM. **Resistência da *Candida glabrata* a diferentes concentrações de antifúngico.** Dissertação [Mestrado Integrado em Engenharia Biológica Ramo Tecnologia Química e Alimentar]. Braga: Universidade do Minho; 2013.
46. Viani PRC. ***Candida* provenientes de infecção hospitalar isoladas de pacientes internados em hospital infantil do estado de São Paulo e avaliadas por marcadores fenotípicos.** Dissertação [Mestrado em Ciências]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2007.
47. Margotto PR. **Novos Antifúngicos. Prof. Do Curso de Medicina da Escola Superior de Ciências da Saúde (ESCS) /SES/DF.** Brasília, fev. 2012.
48. Martinez R. Susceptibility of *Cryptococcus neoformans* biofilms to antifungal agents in vitro. **Rev. American Society for Microbiology.** 2006 ago.; 2(4):1021-1033.

49. Magalhães VM. **Utilização de equinocandinas na terapia antifúngica em neonatos.** Monografia [Pós-graduação em Farmácia Hospitalar e Clínica]. Recife: Faculdade Santa Emília; 2012.
50. Pires RH. **Formação de biofilmes e resistência a antifúngico e biocidas em *Candida parapsilosis* e *C. orthopsilosis* isoladas de águas usadas para hemodiálise.** Tese [Doutorado em Biociências e Biotecnologia]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista; 2010.
51. Costa CR. **Molecular characterization of *Candida albicans* resistant and susceptible to fluconazole.** Tese [Doutorado em Ciências da Saúde]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2009.
52. Gueti GGM. **Caracterização de leveduras do gênero *trichosporon* isoladas de três regiões costeiras do estado de São Paulo.** Dissertação [Doutorado em Microbiologia]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2009.

BIOSSEGURANÇA NOS CENTROS DE EMBELEZAMENTO E ESTÉTICA DO MUNICÍPIO DE CASCAVEL- PR

Vanessa Bordin

Universidade Estadual do Oeste do Paraná-
UNIOESTE
Cascavel- PR

Débora Cristina Ignácio Alves

Universidade Estadual do Oeste do Paraná-
UNIOESTE
Cascavel- PR

Leda Aparecida Vanelli Nabuco de Gouvêa

Universidade Estadual do Oeste do Paraná-
UNIOESTE
Cascavel- PR

Maristela Salet Maraschin

Universidade Estadual do Oeste do Paraná-
UNIOESTE
Cascavel- PR

RESUMO: O desenvolvimento econômico do país e os meios de comunicação têm influenciado o aumento da renda e trazendo consigo padrões de imagem e beleza, sendo, necessário o crescimento quantitativo de profissionais que possam atender esta demanda, incluindo as manicures e pedicures. O objetivo deste estudo foi verificar o conhecimento de manicures e pedicures em relação à utilização de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs). No período de 14 de abril a 14 de junho de 2016, foram

entrevistados 61 centros de embelezamento e estética localizados no município de Cascavel-PR. As entrevistas foram realizadas por meio de um questionário semiestruturado, contendo dados da caracterização do estabelecimento; dados da caracterização do entrevistado; dados da caracterização do processo de trabalho; dados de conhecimento específico. Os dados do instrumento foram devidamente tabulados no *software Microsoft Office Excel®*, e posteriormente sintetizados por meio de estatísticas descritivas. Em relação ao uso na prática profissional de EPIs, 34,4% citaram que os utilizam e 65,6% citaram que não. Daqueles entrevistados que utilizam os EPIs, 61,9% afirmam que os utilizam em todos os atendimentos, ou com aqueles que percebem que há risco de contaminação (38,1%). O principal motivo mencionado por não utilizar os EPIs é porque causa incômodo e desconforto durante o atendimento (82,5%). Os profissionais participantes do estudo tiveram baixa adesão ao uso de EPIs, assim, ao não utilizarem os EPIs recomendados, profissionais do ramo da beleza e estética, estão propensos aos riscos ocupacionais existentes no contato direto ou indireto com clientes e materiais.

PALAVRAS-CHAVE: Centros de embelezamento e estética; Equipamento de proteção individual; Biossegurança.

ABSTRACT: The economic development of the country and the media have influenced the increase of income and bringing with it image and beauty standards, being necessary the quantitative growth of professionals who can meet this demand, including manicures and pedicures. The objective of this study was to verify the knowledge of manicures and pedicures in relation to the use of Personal Protective Equipment (PPE). In the period from April 14 to June 14, 2016, 61 beautification and aesthetics centers were interviewed located in the municipality of Cascavel- PR. The interviews were carried out through a semistructured questionnaire, containing data from the characterization of the establishment; interviewer characterization data; characterization of the work process; knowledge. The instrument data was tabulated in *Microsoft Office Excel® software*, and then synthesized using descriptive statistics. Regarding the use in professional practice of PPE, 34,4% mentioned that they use them and 65,6% did not. Of those interviewed who use PPE, 61,9% say they use it at all visits, or with those who perceive that there is a risk of contamination (38,1%). The main reason mentioned for not using the PPE is because it causes discomfort and discomfort during the care (82,5%). The professionals participating in the study had low adherence to the use of PPE, so, by not using the recommended PPE, beauty and esthetics professionals, are prone to the occupational risks existing in direct or indirect contact with clients and materials.

KEYWORDS: Beauty and Aesthetics Centers; Personal Protective Equipment; Biosafety.

1 | INTRODUÇÃO

O desenvolvimento econômico do país e os meios de comunicação têm influenciado o aumento da renda e trazendo consigo padrões de imagem e beleza, atingindo todas as camadas sociais, faixas etárias de ambos os sexos. Tal condição tem inspirado os indivíduos a se preocuparem com a qualidade de vida, sobretudo, quanto aos cuidados com o corpo, sendo necessário o crescimento quantitativo de profissionais que possam atender esta demanda, incluindo as manicures e pedicures (MELO; SARTOR; BONI, 2014).

Entretanto, esse crescimento não tem acompanhado a devida qualificação profissional, expondo trabalhadores e clientela atendida, aos riscos inerentes às atividades desenvolvidas (MELO; SARTOR; BONI, 2014).

O risco da transmissão microbiana torna-se iminente quando manicures e pedicures desconhecem e não aderem às medidas de biossegurança que incluem a utilização de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) (GARBACCIO; OLIVEIRA, 2013), adequadas técnicas de reprocessamento de artigos, procedimentos de desinfecção, limpeza e esterilização dos instrumentais e a estrutura físico-funcional dos estabelecimentos (DINIZ; MATTÉ, 2013), além de descarte de materiais de uso único e prática de higienização das mãos (GARBACCIO; OLIVEIRA, 2015).

O Ministério do Trabalho e Emprego (MTE), em sua Norma Regulamentadora (NR) nº 6, define os EPIs como sendo todos aqueles dispositivos ou produtos, de uso

individual, utilizado pelo trabalhador, destinado à proteção de riscos suscetíveis que ameaça a segurança e a saúde no trabalho. Estes equipamentos não são destinados somente a garantir a proteção destes profissionais, mas, também, possuem papel importante na diminuição do risco de transmissão de micro-organismos durante o exercício da profissão (BRASIL, 1978).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), ao se realizar a prestação de cuidados a outro indivíduo durante a realização de qualquer procedimento que envolva sangue, secreções ou contato com a pele e mucosas deve-se: lavar as mãos, usar luvas, máscara, óculos de proteção; avental/jaleco, sapatos fechados, fazer o descarte adequado de material contaminado, vacinar-se contra o VHB (vírus da hepatite B), dentre outros (PIMENTA, et al. 2017).

Na prática dos podólogos, manicures e pedicures, as alicates, lixas e cortadores de unha, constituem grande preocupação. Para esta categoria profissional, máscara, luvas descartáveis, avental, óculos de proteção, touca e sapatos fechados, são EPIs essenciais, além da importância da vacinação contra hepatite B, tétano e influenza. O descarte dos materiais cortantes e perfurantes deve seguir os mesmos princípios indicados para os profissionais de saúde, com a adoção de recipientes rígidos (PARANÁ, 2009).

Os EPIs funcionam como barreira contra a transmissão de micro-organismos devendo ser utilizados de acordo com o tipo de atividade realizada e o risco de exposição aos patógenos (PARANÁ, 2013-2014).

Existem duas modalidades de equipamentos de proteção aos trabalhadores: aqueles que conferem proteção coletiva, neste caso, protegem o conjunto dos trabalhadores de um setor de trabalho; e, aqueles que conferem proteção individual, ou seja, a proteção é específica para um determinado indivíduo, a saber: luvas, máscaras, óculos de proteção, aventais, gorros, botas e sapatos (PARANÁ, 2013-2014).

Assim, com base nas Precauções Padrão (PP) e nas normas de biossegurança em relação ao uso obrigatório de EPIs, o Ministério do Trabalho, conforme Portaria nº 3214, de 08 junho 1978, estabeleceu a NR nº 6 que regulamentou os EPIs, como dispositivos ou produtos, de uso individual utilizado pelo trabalhador, destinados à proteção de riscos suscetíveis de ameaçar a segurança e a saúde no trabalho (BRASIL, 1978).

Os EPIs recomendados pelas PP para a prática de manicure e pedicure, devem ser utilizados de modo individual, considerados imprescindíveis, de acordo com a função que exercem em determinadas partes do corpo e divididos em:

- Proteção para a cabeça

a) Óculos de proteção: representam uma barreira de proteção de transmissão de infecções, diante da presença de fluidos contaminados e substâncias livres no ar encontrados nesses estabelecimentos de embelezamento, pelo processo de lixar as

unhas e atingirem os olhos, ou, pelo ato de coçar ou esfregar os olhos com as mãos contaminadas ou sujas (PARANÁ, 2013-2014). Devem ser usados para a proteção dos olhos, durante a manipulação de produtos químicos ou na retirada do eponíquio (SÃO PAULO, 2012). Após o uso, lavar os óculos com água e sabão e fazer a desinfecção com álcool etílico 70% (BRASIL, 1978).

b) Máscaras: importante forma de proteção da boca e nariz, prevenindo a ingestão ou inalação de micro-organismos, presentes na fala, tosse, espirro ou qualquer substância que possa ser aspirada (SÃO PAULO, 2012). Devem ser utilizadas para todo e qualquer atendimento, independentemente do procedimento, e são obrigatoriamente descartáveis (SCHMIDLIN, 2006).

c) Touca: sua utilização previne a queda de cabelos, importante forma de transmissão de micro-organismos no local que está sendo realizado o procedimento. Oferece uma barreira para a possibilidade de contaminação dos cabelos por meio de secreções que possam ser espirradas pelo simples fato de manuseá-los com as mãos, uma forma de prevenir a colonização dos cabelos do profissional, representando assim, uma medida de higiene (SCHMIDLIN, 2006).

- Proteção para os membros superiores

a) Luvas: utilizadas como barreira de proteção, prevenindo contra contaminação das mãos ao manipular materiais contaminados ou perfurocortantes, reduzindo, assim, a possibilidade de contaminação (SCHMIDLIN, 2006).

Recomenda-se o uso de luvas caso haja probabilidade de contato com sangue, fluidos corpóreos, pele não íntegra, manuseio de materiais ou superfícies sujas com sangue e fluidos, independente do diagnóstico do cliente (GARBACCIO, 2013).

Devem ser usadas, também, no contato com produtos químicos de ação corrosiva, cáustica, alergênica, tóxica e térmica (SÃO PAULO, 2012).

O uso de luvas não substitui a necessidade da higienização das mãos. Jamais devem ser reutilizadas e precisam ser descartadas em local adequado após o uso (SCHMIDLIN, 2006).

- Proteção do tronco

a) Avental: usados para fornecer uma barreira de proteção e reduzir a transmissão de micro-organismos. Previnem a contaminação das roupas do profissional, protegendo a pele da exposição a sangue e fluidos corpóreos. Devem, obrigatoriamente, ter mangas longas, quando descartáveis, devem ser resistentes e impermeáveis, sendo o uso restrito ao local de trabalho (GARBACCIO, 2013).

- Proteção para membros inferiores

a) Sapatos: Utilizar sapatos fechados, evitando o uso de chinelos, minimizando os

riscos de acidentes com materiais perfurocortantes e também contato com secreções possivelmente contaminadas (GARBACCIO, 2013).

O objetivo deste estudo foi verificar qual o conhecimento de manicures e pedicures em relação à utilização de EPIs na prática diária e em relação as medidas de biossegurança por elas adotadas.

2 | METODOLOGIA

Estudo descritivo, exploratório e quantitativo. A quantificação foi utilizada tanto na coleta de informações, quanto no tratamento dos resultados e técnicas estatísticas. Ela tem como objetivo a precisão dos trabalhos realizados, chegando a um resultado com mínimas distorções (RICHARDSON, 2017).

A coleta de dados, nesse aspecto, se realiza por meio de questionários que apresentem variáveis distintas e relevantes e as informações obtidas poderão ser convertidas em números por meio de dados estatísticos, e de tabelas e gráficos (GIL, 2017; POPPER, 2013).

No período de 14 de abril a 14 de junho de 2016, foram entrevistados 61 centros de embelezamento e estética localizados no município de Cascavel-PR. As entrevistas foram realizadas por meio de um questionário semiestruturado, contendo dados de caracterização do estabelecimento; dados de caracterização do entrevistado; dados de caracterização do processo de trabalho e dados de conhecimento específico.

O instrumento de coleta de dados (questionário) foi previamente testado em um salão de beleza (teste piloto) e as respostas foram analisadas para confirmar se as questões estavam de acordo com os objetivos da pesquisa. Os dados obtidos foram devidamente tabulados no *software Microsoft Office Excel®* e posteriormente sintetizados por meio de estatísticas descritivas (frequências absolutas - n; e frequências relativas percentuais - %). As variáveis quantitativas foram avaliadas por meios das estatísticas descritivas de mínimo, máximo, média e desvio padrão.

A presente pesquisa é contemplada em um projeto guarda-chuva intitulado “Boas Práticas em Saúde: segurança do paciente e qualidade da assistência de enfermagem prestada”, que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), sob parecer nº 1.447.806/2016, bem como está nacionalmente cadastrada por CAAE: 50066815.8.0000.0107.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

A amostra avaliada foi composta por 61 pessoas. Em relação ao uso na prática profissional de EPIs, 34,4% (n=21) citaram que os utilizam e 65,6% (n=40) citaram que não. Dentre os EPIs utilizados, citam-se: luvas 90,5% (n=19); máscara 47,6% (n=10), avental 4,8% (n=1), sendo que touca, sapato fechado e óculos de proteção não foram citados por nenhum entrevistado.

Daqueles entrevistados que utilizam os EPIs, 61,9% (n=13) afirmam que os utilizam em todos os atendimentos, ou com aqueles que percebem que há risco de contaminação 38,1% (n=8).

VARIÁVEL	CATEGORIAS	N	%	P-VALOR
Uso na prática profissional de EPIs	Sim	21	34,4	0,015
	Não	40	65,6	
EPIs utilizados durante o procedimento de manicure/pedicure	Luvas	19	90,5	< 0,0001*
	Máscara	10	47,6	
	Avental	1	4,8	
	Óculo de proteção	0	0	
	Touca	0	0	
	Sapato fechado	0	0	
Dos EPIs citados, quando os utiliza	Todo atendimento	13	61,9	< 0,0001*
	Aqueles que percebe risco para contaminação	8	38,1	
	Quando sabe que o cliente possui alguma doença	0	0,0	
	Após realizar procedimento que causou sangramento	0	0,0	
	Ferimento nas unhas	0	0,0	
	Risco de sangue/secreções nos olhos/mucosa	0	0,0	
	Alergia a produtos	1	4,8	
Principal motivo de não utilizar EPIs	Não traz riscos	1	2,5	< 0,0001*
	Não sofre ferimentos que justifica o uso	0	0,0	
	Nunca se acidentar	1	2,5	
	Desconhecia a necessidade de usar EPIs	4	10,0	
	Pelo preço dos EPIs	7	17,5	
	Incomoda e causa desconforto	33	82,5	
	Incomoda o cliente	4	10,0	
	Tem alergia ao material do EPI/ látex	1	2,5	
	Outros: Nunca ter sido exigido no salão	1	2,5	
	Não tem vontade de usar/não vê necessidade	2	5,0	
Falta de prática/costume	1	2,5		

Tabela I - Frequências absolutas (n) e relativas (%) das categorias das variáveis relacionadas ao processo de trabalho. P-valor do teste de qui quadrado para aderência ou k proporções*. Cascavel- PR, 2016.

Fonte: Dados coletados na pesquisa.

p-valor com nível de significância de 0,05.

A adoção de medidas individuais de proteção por meio do uso de EPIs também é uma importante maneira de reduzir o risco de exposição ao VHB. O uso de luvas é recomendado sempre que houver possibilidade de contato com o sangue, mucosa e pele não íntegra e também para manuseio de itens ou superfícies sujas de sangue (GARBACCIO; OLIVEIRA, 2015).

Vale ressaltar que as luvas são de uso único, retiradas e descartadas após a utilização entre um cliente e outro, e, após calçá-las, é de fundamental importância que se evite tocar superfícies e outros objetos que não façam parte do cuidado direto ao cliente (SIEGEL, 2007).

Destarte, o MS, desenvolveu um folheto explicativo para profissionais da beleza recomendando o uso de luvas e EPIs descartáveis para cada cliente, bem como, o uso de luvas de borracha para a realização da limpeza dos instrumentos no intuito de minimizar os riscos que um possível acidente com perfurocortantes possa causar, mas, a grande maioria dos profissionais negligencia essas ações (WALSH, 2012).

O uso dos EPIs protege profissionais e clientes da exposição a sangue, outros fluidos corpóreos e fragmentos de unhas que podem carrear micro-organismos transmissíveis. No Brasil observou-se que 87,5% das manicures que apresentaram marcador sorológico positivo para hepatite B, não usavam luvas descartáveis durante execução de seus procedimentos (OLIVEIRA; CARDOSO; MASCARENHAS, 2009).

Como podemos observar na tabela I, o principal motivo mencionado pelas entrevistadas para não utilizarem os EPIs, está relacionado ao incômodo e desconforto provocados durante o atendimento. O desconforto no uso dos EPIs é apontado em outros estudos, além de subestimar o risco ou desconhecê-lo e relatar alergia ao látex das luvas de procedimento (OLIVEIRA; SILVA; GARBACCIO, 2012).

Vale ressaltar que a obrigatoriedade do uso de EPIs é estabelecida para todos os trabalhadores brasileiros pela NR nº 6 de 1978 (BRASIL, 1978). E, no caso de riscos de contatos com material biológico, o uso de EPIs é uma medida universal, não restrita apenas aos profissionais de saúde, mas a todos que tenham a possibilidade de contato com sangue e outros líquidos corpóreos, os quais podem ser passíveis de transmissão de micro-organismos (WALSH, 2012).

O uso de luvas e outros EPIs na prevenção do contato com sangue ou fluidos, devem ocorrer para todas as situações em que há o risco e não após a exposição ter ocorrido, e isto inclui todo o trabalho que é realizado por manicures e pedicures, não se excluindo qualquer opção ou dada circunstância (SIEGEL, 2007).

Em relação ao vestuário, estudos com barbeiros mostraram falta de cuidado com o vestuário e aventais que não eram lavados ou trocados regularmente (80%-100%) (OLIVEIRA; SILVA; GARBACCIO, 2012).

Apesar da ausência de estudos sobre o vestuário dos profissionais da beleza e estética infere-se que, como os profissionais de saúde, eles podem se contaminar por micro-organismos que podem causar danos especialmente quando há algum desequilíbrio imunológico. Portanto, alguns cuidados devem ser tomados com

uniformes, aventais e jalecos usando-os apenas no salão de beleza e evitando circular com estes em outros ambientes fora do local de trabalho. Este vestuário deve ser lavado diariamente, como o de profissionais da saúde, pois quanto menor a frequência deste cuidado, maior a possibilidade de contaminação e manutenção dos micro-organismos nos tecidos (NAM; ANIL, 2015).

Quando a lavagem do vestuário se der no âmbito doméstico, ele deve ser separado de outras roupas ou do restante da própria família e passado a ferro quente, pois micro-organismos, em especial fungos, podem resistir ao processo de lavagem simples, mas, eliminados pela temperatura a que são submetidos quando passados (SOBRINHO, et al, 2014).

Subestimar o risco pode ser atribuído a vários aspectos do comportamento humano, pela indevida percepção de um risco invisível (micro-organismos) ou não mensurável e não consideração da responsabilidade do profissional na resolução, minimização ou prevenção de um problema. Há evidências quanto ao conhecimento suficiente de profissionais da saúde sobre os perigos e riscos biológicos nas atividades que exercem, contudo, estes, algumas vezes, não incorporam as precauções padrão de forma efetiva na prática cotidiana (YANG, et al, 2014).

A alergia ao látex foi apontada na pesquisa realizada por uma (2,50%) profissional e tem sido identificada em pessoas que trabalham continuamente utilizando luvas, como os profissionais da saúde e no Brasil, estima-se que esta atingiu 30,0% deles comparado a 2,0% na população em geral. Aqueles que calçam luvas têm risco aumentado para sensibilização ao látex. Os alérgenos presentes no látex são proteínas que podem ser absorvidas pela umidade natural da pele ou, indiretamente, dissolvidas ao talco em contato com a pele ou por via inalatória e, os sinais mais comuns da reação ao látex são as dermatites de contato, urticária de contato, conjuntivite, rinite, asma e anafilaxia (SILVA, et al, 2014).

A justificativa para a baixa adesão aos EPIs muitas vezes se deve à indisponibilidade destes no salão, ao preço e não aquisição pelo proprietário (no sentido de reduzir custos), ou por falta de conhecimento ou exigência da Vigilância Sanitária Municipal. Destaca-se a importância em oferecer EPIs adequados ao risco de exposição de cada atividade, sendo, portanto, uma obrigação do empregador além de exigir o seu uso após orientar e treinar o trabalhador; e, ao empregado, cabe cumprir as determinações vigentes e do empregador sobre o uso adequado (BRASIL, 1978; WALSH, 2012).

4 | CONCLUSÕES

É exímia a grande preocupação da população em relação à boa aparência das mãos e pés, e isso inclui os cuidados com as unhas. No entanto, em razão das várias ocupações e tarefas a serem realizadas no dia-a-dia, muitas pessoas procuram os serviços de manicure/pedicure sem, às vezes, dar atenção à higiene referente ao

serviço.

Os profissionais participantes do estudo tiveram baixa adesão ao uso de EPIs, sendo o principal motivo relatado pela não utilização, o incômodo e desconforto que os mesmos geram durante o atendimento. Assim, ao não utilizarem os EPIs recomendados, profissionais do ramo da beleza e estética, estão propensos aos riscos ocupacionais existentes no contato direto ou indireto com pacientes e materiais.

Desta forma, a criação de grupos de estudos direcionados aos profissionais do ramo de beleza de modo geral se faz de grande relevância, com discussões de temas pertinentes visando à implementação de medidas de biossegurança e de boas práticas, haja vista que se trata de um problema importante na esfera da saúde pública, auxiliaria no aperfeiçoamento destes profissionais e nas dúvidas que ocorrem no cotidiano desta atividade que cresce sobremaneira no país e no mundo.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Portaria nº 3.214, de 08 de junho de 1978. **Aprova as Normas Regulamentadoras- NR- do Capítulo V, Título II, da**

Consolidação das Leis do Trabalho, relativas à Segurança e Medicina do Trabalho.

Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília: Ministério do Trabalho e Emprego, 1978.

DINIZ Andreia Ferreira; MATTÉ Glavur Rogério. **Procedimentos de biossegurança adotados por profissionais de serviços de embelezamento.** Saúde Soc. São Paulo-SP, v. 22, n. 3, p. 751-759, 2013. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/sausoc/v22n3/09.pdf>>. Acesso em: 11 dez. 2017.

GARBACCIO Juliana Ladeira. **Conhecimento e Adesão às Medidas de Biossegurança entre Manicures e Pedicures.** 2013. 155 f. Tese (Doutorado em Saúde e Enfermagem- Programa de Pós Graduação da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais-MG, 2013.

GARBACCIO Juliana Ladeira; OLIVEIRA Adriana Cristina de. **Adesão e conhecimento sobre o uso de equipamentos de proteção individual entre manicures e pedicures.** Rev Bras Enferm, jan-fev, v. 68, n. 1, p. 52-9, 2015. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/reben/v68n1/0034-7167-reben-68-01-0052.pdf>>. Acesso em: 12 out. 2017.

GARBACCIO Juliana Ladeira; OLIVEIRA Adriana Cristina de. **O risco oculto no segmento de estética e beleza: uma avaliação do conhecimento dos profissionais e das práticas de biossegurança nos salões de beleza.** Texto Contexto Enferm. Florianópolis-SC, out-dez, v. 22, n. 4, p. 22:989-998, 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/tce/v22n4/15.pdf>>. Acesso em: 12 out. 2017.

GIL Antônio Carlos. **Como Elaborar Projetos de Pesquisa.** 6ª ed. São Paulo: Atlas, 2017, 192 p.

MELO Milene Aparecida Bobato de; SARTOR Claudenice Francisca Providelo; BONI Sara Macente. **Controle microbiológico de alicates de cutícula em salões de beleza no município de Maringá- PR.** In: VII Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica.

Maringá-PR, out, p. 21-24, 2014. Disponível em: <<http://docplayer.com.br/23656137-Control-microbiologico-de-aticates-de-cuticula-em-saloes-de-beleza-no-municipio-de-maringa-pr.html>>. Acesso em: 10 set. 2017.

NAM D Pham; ANIL Sarda. **The Value of Cosmetology Licensing to the Health, Safety, and Economy of America**. NDP analytics, Washington. 202.450.1368, 2015. Disponível em: <<https://static1.squarespace.com/static/52850a5ce4b068394a270176/t/54ca482ee4b04bc79092e6da/1422542894461/PBA+Report+-+February+2015.pdf>>. Acesso em: 18 abr. 2018.

OLIVEIRA Adriana Cristina de; CARDOSO Clareci Silva; MASCARENHAS Daniela. **Conhecimento e comportamento dos profissionais de um centro de terapia intensiva em relação à adoção das precauções de contato**. Rev. Latino-Am Enfermagem. set-out, v. 17, n. 5, p. 625-631, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rlae/v17n5/pt_05.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2017.

OLIVEIRA Adriana Cristina de; SILVA Marlene das Dores Medeiros; GARBACCIO Juliana Ladeira. **Vestuário de profissionais de saúde como potenciais reservatórios de micro-organismos: uma revisão integrativa**. Texto Contexto Enferm. Florianópolis-SC, jul-set, v. 21, n. 3, p. 684-691, 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/tce/v21n3/v21n3a25.pdf>>. Acesso em: 22 mai. 2017.

PARANÁ (Estado). Resolução nº 204, de 17 de março de 2009. **Dispõe sobre as condições para instalação e funcionamento dos Estabelecimentos de Podologia**. Diário Oficial do Estado do PR. Curitiba: Secretaria de Saúde, 2009.

PARANÁ (Estado). Serviço de Controle de Infecção Hospitalar. **Prevenção da Transmissão de Agentes Infeciosos no Ambiente Hospitalar**. Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2013-2014.

PIMENTA Guiomar Rocha Pimentel; et al. **Ações de promoção e prevenção à saúde do trabalhador sob risco de exposição e transmissão de hepatites virais**. Rev APS. jan-mar, v. 20, n. 1, p. 140-144, 2017. Disponível em: <<https://aps.ufjf.emnuvens.com.br/aps/article/view/2818/1069>>. Acesso em: 15 dez. 2017.

POPPER Karl. **A lógica da pesquisa científica**. São Paulo: Cultrix, 2013. 456 p.

RICHARDSON Roberto Jarry. **Pesquisa social. Métodos e técnicas**. 4ª ed. São Paulo: Atlas, 2017, 424 p.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Saúde. **Manual de orientação para instalação e funcionamento de institutos de beleza sem responsabilidade médica**. Centro de Vigilância Sanitária do Estado de São Paulo. São Paulo, 2012, 42p.

SCHMIDLIN K. C. S. **Biossegurança na estética: Equipamento de Proteção Individual-EPIs**. Rev. Personalité. São Paulo-SP, dez-jan, v. 9, n. 44, p. 80-101, 2006. Disponível em: <www.revistapersonalite.com.br/biosseguranca>. Acesso em: 07 set. 2017.

SIEGEL Jane; et al. **Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for Isolation Precautions: preventing transmission of infectious agents in healthcare settings**. v. 35, n. 10, p. S65-S164, 2007. Disponível em: <[http://www.ajicjournal.org/article/S0196-6553\(07\)00740-7/fulltext](http://www.ajicjournal.org/article/S0196-6553(07)00740-7/fulltext)>. Acesso em: 10 jan. 2018.

SILVA Luna Mayra da Silva e; et al. **Prevenção da transmissão de hepatites**

virais entre manicures e pedicures - uma revisão. Infarma- Ciên. Farmacêuticas. Brasília-DF, v. 26, n. 2, p. 82-89, 2014. Disponível em: < http://revistas.cff.org.br/?journal=infarma&page=article&op=view&path%5B%5D=586&path%5B%5D=pdf_14>. Acesso em: 22 out. 2017.

SOBRINHO Hermínio Maurício da Rocha; et al. **Avaliação do conhecimento e práticas de biossegurança em uma amostra de profissionais da beleza de Goiânia-Goiás.** J Health Sci Inst. v. 32, n. 4, p. 343-52, 2014. Disponível em: <https://www.unip.br/presencial/comunicacao/publicacoes/ics/edicoes/2014/04_out-dez/V32_n4_2014_p343a352.pdf>. Acesso em: 02 abr. 2018.

WALSH Sara. **Beyond the Polish: An Examination of Hazardous Conditions in Nail Salons and Potential Solutions for the Industry in New York City.** Journal of Law and Policy. v. 21, n. 1, p. 242-282, 2012. Disponível em: <<https://brooklynworks.brooklaw.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1069&context=jlpl>>. Acesso em: 15 mar. 2018.

YANG Jun; et al. **Risk for hepatitis B and C virus transmission in nail salons and barbershops and state regulatory requirements to prevent such transmission in the United States.** J Public Health Manag Pract. v. 20, n. 6, p. E20-E30, 2014. Disponível em: <<https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=25250760>>. Acesso em: 15 abr. 2018.

DESENVOLVIMENTO DE PLANO OPERATIVO PARA PROMOÇÃO DO USO RACIONAL DE ANTIMICROBIANOS NA FARMÁCIA BÁSICA DE UM MUNICÍPIO DO MARANHÃO: RELATO DE EXPERIÊNCIA

Nágila Caroline Fialho Sousa

Curso de Farmácia, Universidade Ceuma
São Luís, Maranhão

Isabella Fernandes da Silva Figueiredo

Curso de Farmácia, Universidade Ceuma
São Luís, Maranhão

Mizael Calácio Araújo

Curso de Farmácia, Universidade Ceuma
São Luís, Maranhão

Saulo José Figueiredo Mendes

Curso de Farmácia, Departamento de Pós-graduação em Biologia Parasitária, Universidade Ceuma,
São Luís, Maranhão

RESUMO: O objetivo do presente trabalho é promover o uso racional de antimicrobianos em uma farmácia básica de um município do estado do Maranhão, utilizando a metodologia do Planejamento Estratégico Situacional (PES), a fim de contribuir com a resolução do problema priorizado. Foi utilizado um relato de experiência através de propostas e criação de estratégias para a implantação de melhorias na promoção do uso racional de antimicrobianos. Conforme o modelo de PES, o trabalho foi baseado nos momentos: explicativo, normativo, estratégico e tático-operacional, que fazem parte da construção de um plano operativo.

Foram realizadas duas oficinas com os autores envolvidos nas quais determinou-se o problema, uso irracional de antimicrobianos, assim como planos de ações para erradicar o problema priorizado, a saber, melhorar as ações de assistência farmacêutica, e criar uma comissão de farmácia e terapêutica e uma comissão de controle de infecção hospitalar. O desenvolvimento das ações via PES foi fundamental para a qualificação da assistência farmacêutica no município em estudo, sendo um importante passo rumo à concretização do objetivo principal de promover o uso racional de antimicrobianos.

PALAVRAS-CHAVE: assistência Farmacêutica; antibacterianos; planejamento estratégico.

ABSTRACT: The objective of this work is to promote the rational use of antimicrobials in a basic pharmacy of a city in the state of Maranhão, using the methodology of Strategic Situational Planning (SSP), in order to contribute to the resolution of prioritized problem. For the present study we used an experience report through suggestion and creating strategies for the implementation of improvements to further the rational use of antimicrobials. According on the model of SSP, the work was based on moments: explanatory, normative, strategic and tactical-operational, which are part of the construction of an operating plan. Two

workshops were conducted, in which it was determined the problem, irrational use of antimicrobials, as well as action plans to eradicate prioritized problem, namely improve pharmaceutical care activities, and create a commission of pharmacy and therapeutics, and a commission of hospital infection control. The development of actions via PES was essential for the qualification of pharmaceutical services in the municipality under study, an important step towards achieving the main objective of promoting the rational use of antimicrobials.

KEYWORDS: pharmaceutical services; anti-bacterial agentes; strategic planning.

INTRODUÇÃO

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), os antibióticos têm sido empregados em diversas situações clínicas sem base em evidências que comprovem sua real indicação. Os antimicrobianos são usados precipitadamente em até 60% dos casos de infecções respiratórias, e em quase 40% dos casos de diarreia em países em desenvolvimento, uma vez que predominam as infecções virais e/ou parasitárias (Nogueira et al., 2015). Dados nacionais e mundiais mostram que mais de 50% do uso desses medicamentos é desnecessário ou inadequado e, em alguns casos, sem prescrição médica, tampouco atendimento por meio da atenção primária do Sistema Único de Saúde (SUS) (Liell et al., 2009; Ferreira & Ferreira, 2015). A utilização desses medicamentos feita de forma precipitada, abusiva e desnecessária, expõe a população a uma série de riscos, com implicações diretas na disseminação de micro-organismos resistentes, ocasionando o aumento de gastos em saúde decorrentes de uso inadequado de antimicrobianos (Neto et al., 2011). Por outro lado, entra o importante papel da Assistência Farmacêutica que é conceituada como um sistema que envolve uma organização complexa exercitada por um grupo de atividades relacionadas com os medicamentos (Lamb & Shimizu, 2014). O farmacêutico tem um papel basilar no combate ao uso irracional de antimicrobianos através de ações assistenciais, criando um elo entre o usuário e o medicamento (Vieira et al., 2014).

É importante que o farmacêutico desenvolva planos de ações na perspectiva de tornar exequível a operação assistencial (Lamb & Shimizu, 2014). Diante do exposto, o presente estudo baseou-se na teoria do Planejamento Estratégico Situacional (PES). Esta teoria, sistematizada originalmente pelo economista chileno Carlos Matus em meados da década de 70, trata-se de um conjunto de princípios teóricos, procedimentos metodológicos e técnicas de grupo que podem ser aplicados a qualquer tipo de organização social que demanda um objetivo, que persegue uma mudança situacional futura. Nesse sentido o PES foi de grande subsídio para a necessidade de planos de ações que dependem de articulações para serem implementadas (Rivera & Artmann, 1999). Portanto, o objetivo do presente trabalho foi promover o uso racional de antimicrobianos em uma farmácia básica de um município do estado do Maranhão, utilizando a metodologia do PES, a fim de contribuir com a resolução do problema priorizado.

METODOLOGIA

Para o presente trabalho foi utilizado um relato de experiência através de propostas e criação de estratégias para a implantação de melhorias na promoção do uso racional de antimicrobianos na farmácia básica de um município no estado do Maranhão.

Apesquisa utilizou o processo de construção do Plano Operativo (PO) desenvolvido no período de fevereiro de 2015 a fevereiro de 2016, onde evidenciou a importância de se viabilizar um planejamento específico em saúde de forma participativa, permitindo exercitar de forma sistemática a análise de uma realidade que necessita de intervenção, sob a ótica de diferentes atores.

O PO foi dividido em quatro momentos do PES: explicativo, normativo, estratégico e tático-operacional. O momento explicativo está relacionado a uma observação da realidade presente e a distância entre o agora e o que se almeja para o futuro. O momento normativo se baseia em estabelecer objetivos em função de problemas ou grupos de problemas, determinando planos de ações e metas para realizá-los. O momento estratégico refere-se em analisar a realidade e verificar se há contradições entre os objetivos e se é possível contornar obstáculos. Já o momento tático-operacional caracteriza-se pela execução do plano operativo e construção de indicadores (Castro et al., 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme o modelo de PES, o trabalho foi baseado nos momentos: explicativo, normativo, estratégico e tático-operacional, que fazem parte da construção de um plano operativo, neste caso, com o objetivo final de implementar melhorias na promoção do uso racional de antimicrobianos. No que diz respeito aos problemas de saúde pública o PES é uma metodologia de planejamento que pode ser um dispositivo, onde o mais importante não é o produto, isto é, o plano ou projeto de ação, mas o processo, ou seja, o caminho de sua produção, possibilitando uma nova subjetivação dos participantes, com suas potencialidades de estabelecer contratos e compromissos na seleção de prioridades em vista da consecução do fim visado (Junges, Barbiani & Zoboli, 2015). O primeiro momento foi realizado através de uma oficina que possibilitou a realização da matriz explicativa e do momento normativo, ao todo participaram 5 atores envolvidos, representando os seguintes setores: Direção do Hospital; Secretaria de Saúde; Farmácia Básica; Distribuidora de Medicamentos; Equipe Médica. Durante a oficina foram numerados quatro problemas em ordem de importância (Tabela I). Para a elaboração da matriz do momento estratégico foi necessário a realização de outra oficina com a participação dos mesmos atores. Durante as oficinas todos os atores tiveram a oportunidade de participar e discutir os problemas relacionados a farmácia.

Nº	PROBLEMA IDENTIFICADO
01	Uso irracional de antibióticos
02	Alto consumo de psicotrópicos por falta de acompanhamento médico
03	Demora na entrega de medicamentos por falta de recursos financeiros.
04	Recebimento de medicamentos com curto prazo de validade

Tabela I- Lista de problemas identificados.

Os problemas foram pontuados obedecendo critérios estabelecidos no PES (magnitude, transcendência, vulnerabilidade, urgência e factibilidade), através de entrevista com os atores envolvidos (médico, enfermeiro, diretor do hospital, secretário de saúde e técnico de farmácia) (Tabela II). Para cada parâmetro analisado foi atribuída uma pontuação de 0 a 4, onde o valor zero indica importância nula, 1 para pouco, 2 para um padrão médio, 3 para alto e 4 para muito alto. Os participantes da oficina listaram os principais problemas, e em seguida atribuíam uma pontuação para cada problema. Sempre que um ator não concordava com a pontuação dada a um problema, gerava-se uma discussão sobre qual critério seria primordial. O quesito mais abordado pelos atores foi sobre a origem e o uso irracional de antimicrobianos. Neste sentido, o problema priorizado foi o uso irracional de antimicrobianos.

PROBLEMA	Total
Uso irracional de antimicrobianos	84
Alto consumo de psicotrópicos por falta de acompanhamento médico	65
Demora na entrega de medicamentos por falta de recursos financeiros	58
Recebimento de medicamentos com curto prazo de validade	66

Tabela II- Pontuação dos problemas priorizados

O uso indiscriminado de antimicrobianos ainda representa um grande problema de saúde pública (Neto et al., 2011). Nesse sentido, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) tem buscado contribuir no controle de antimicrobianos, publicando recentemente a RDC 20/2011 (Ferreira & Ferreira, 2015) que estabelece critérios para a prescrição, dispensação, embalagem, rotulagem e controle dos produtos contendo antimicrobianos. No entanto, um percentual considerável de uso de antimicrobianos continua ocorrendo sem prescrição médica, isto é, pela automedicação (Pereira & Freitas, 2008). A automedicação, está diretamente relacionado com a prevalência da resistência antimicrobiana, que por sua vez, contribui para a seleção de bactérias que se tornam resistentes aos antibióticos, criando um círculo vicioso (Grigoryan, Haaijer-

Ruskamp & Burgerhof, 2006). Outro fator agravante estar relacionado a negligência médica, onde, em alguns casos o paciente sai do consultório carecendo de um melhor esclarecimento sobre a posologia e tempo terapêutico, levando a uma baixa adesão ao tratamento e conseqüente agravamento da infecção (Nicolini et al., 2008). Santos et al. (2004) ao avaliar o tempo médio de consulta em unidades de saúde, observou que o tempo gasto em cada consulta foi de 9,2 minutos, ainda abaixo dos 15 minutos preconizados pela OMS.

Após priorizar o problema, foi possível determinar os descritores (Tabela III). As evidências usadas foram baseadas na experiência dos atores envolvidos e constantes recorrências da problemática no município e que ganhou uma grande atenção de todos os atores envolvidos, possibilitando a definição das causas e conseqüências convergentes em busca da Imagem-Objetivo (Figura I). Os descritores delimitados são evidências de que o problema enfrentado pelo município quanto ao uso de antimicrobianos são alarmantes. De fato, vários estudos também apontam números que corroboram com os descritos no presente estudo. Nicolini e colaboradores (2008) realizando um estudo sobre fatores relacionados a prescrição médica de antimicrobianos em uma farmácia pública da região Oeste da cidade de São Paulo, entrevistou 149 pacientes e observou que em aproximadamente 30% dos casos o tratamento com antibiótico pode estar comprometido, pois parte dos pacientes desconhece o diagnóstico da sua doença (10,74%), outros não entendem a posologia do antibiótico (15,44%) e uma pequena parcela desconhece tanto o diagnóstico quanto a posologia (3,36%). Em estudo realizado por Pires Júnior e Mengue (2005) em um Centro de Saúde em Porto Alegre-RS revelou que quase dois terços dos usuários de antimicrobianos desconhecem alguns dos itens básicos para a utilização correta destes medicamentos, incluindo dose, frequência da administração, efeitos adversos, duração do tratamento e incompatibilidade medicamentosa.

DESCRITORES (D)

D1 – Baixa adesão ao tratamento

D2 – A maioria dos pacientes são de baixa escolaridade

D3 – Falta de êxito no tratamento

D4 – Desconhecimento quanto ao diagnóstico da doença

Tabela III- Descritores do problema priorizado.

Todos esses índices revelam o impacto negativo que o uso irracional de antimicrobianos pode gerar em pacientes, com risco de agravamento patológico. Ainda, para o fechamento do momento explicativo foi realizada uma oficina com base no diagrama de causa e efeito, também conhecido por diagrama de Ishikawa, uma ferramenta da qualidade que ajuda a levantar as causas-raízes de um problema,

analisando todos os fatores que envolvem a execução do processo. Com base nisso, foram enumeradas questões factíveis, os atores colaboraram para esse momento de forma ativa. No dia da oficina, os enfermeiros e técnicos foram os que mais se manifestaram. Não foi preciso reescrever os problemas e todos chegaram a uma causa e consequência convergente. Assim, as principais causas apontadas para o problema do uso irracional de antibióticos foram: falta de informação, negligência dos profissionais envolvidos e baixo Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) do município. Como consequências foram elencados: resistência aos antimicrobianos aumento de internações uso de diversas classes de medicamentos. A figura 1 demonstra a espinha de peixe com todos os descritores, causas e consequências convergentes e a imagem objeto.

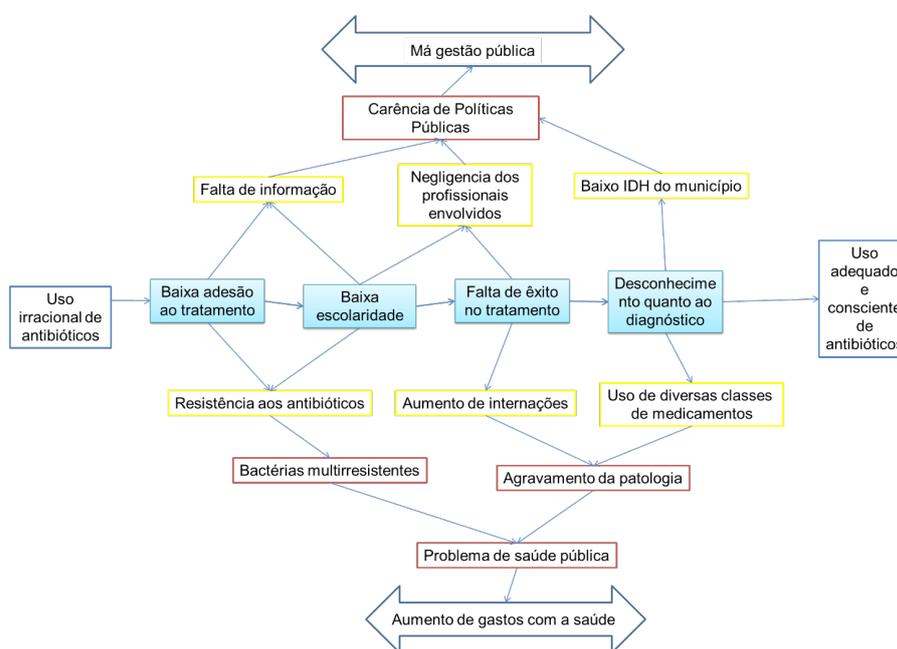


Figura 1. Diagrama de Ishikawa

A partir da causa convergente “Má gestão pública” e da consequência convergente “Aumento de gastos com a saúde” foi definido o Objetivo Geral: promover o uso racional de antibióticos para a diminuição da resistência bacteriana possibilitando o decréscimo de gastos com a saúde. Para isso, foram definidos objetivos específicos para os quais foram estabelecidas as operações e ações, conforme matriz do momento normativo e tático-operacional descrita na Tabela IV. Vale destacar que para esse momento foi necessária a realização de outra oficina para determinar os planos de ações de acordo com os objetivos especificados, todos os atores envolvidos tiveram participação no estabelecimento dos planos para a resolubilidade do problema, propondo estabelecer reuniões trimestrais para acompanhar os indicadores, queixas e avanços do problema priorizado.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS	OPERAÇÕES	AÇÕES
Informar o paciente visando uma melhor adesão ao tratamento	Melhorar as ações da assistência farmacêutica no município	Produzir fichas farmacoterapêuticas e panfletos
Conscientização dos profissionais da saúde sobre a importância do uso racional de antibióticos	Criação de uma Comissão de Controle de Infecção Hospitalar	Agendar reunião com os profissionais envolvidos
		Fiscalização sobre prescrição de profissionais inabilitados
	Criação de uma Comissão de Farmácia e Terapêutica	Criar uma lista de medicamentos padronizados pela farmácia básica
		Realizar um levantamento na literatura sobre a eficácia de alguns desses medicamentos

Tabela IV- Matriz do momento normativo.

O primeiro objetivo elencado foi o de melhorar a informação ao paciente. Estudos anteriores têm apontado que muitos pacientes têm dificuldade no entendimento, assim, a antibioticoterapia pode estar comprometida pela falta de entendimento de diagnósticos, posologia ou ambos. Em muitos casos, os prescritores não lhes falam a respeito do diagnóstico, não informam sobre quais drogas serão utilizadas e seus efeitos adversos, não deixam claro como utilizar os medicamentos e, na maioria das vezes, as prescrições são ilegíveis, além do fato de não haver uma assistência farmacêutica que possibilite as informações necessárias para a completa adesão do paciente e um acompanhamento farmacoterapêutico destas prescrições (Oliveira & Munaretto, 2010). Um estudo avaliando o tempo médio de dispensação em 1498 atendimentos, aponta um tempo médio de dispensação, 55 segundos, variando entre 31 e 95 segundos, com desvio padrão de 10,9. A Organização Panamericana da Saúde preconiza que o farmacêutico disponha de pelo menos um auxiliar e atenda 150 prescrições em 8 horas, correspondendo a 3 minutos por paciente destinados à orientação farmacêutica (Santos, Ottati & Nitrinib, 2004). Portanto, sugere-se que a educação continuada de prescritores aliada a uma melhora na comunicação ao paciente através de estratégias como, a padronização da prescrição de antibióticos, formulação de panfletos e fichas farmacoterapêuticas sejam importantes para a promoção do uso racional de medicamentos.

Outro objetivo abordado foi quanto a conscientização dos profissionais envolvidos, onde, muitos não facultam a importância necessária para essa problemática. Assim, foi sugerido a criação de comissões, Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) e Comissão de Farmácia e Terapêutica (CFT), com o estabelecimento de funções, coordenações e reuniões já feitas no momento da oficina. A OMS estabelece que um dos resultados esperados para promoção do uso racional de medicamentos pelos profissionais de saúde e consumidores dos países em desenvolvimento é a

promoção das CFT em nível institucional, municipal, estadual e nacional (Santana et al., 2014). Um estudo realizado com 250 hospitais públicos e privados de diversas regiões brasileiras mostrou que apenas 29 hospitais haviam implantado uma CFT. Ainda assim, em apenas nove desses hospitais a CFT funcionava regularmente, ou seja, com no mínimo uma reunião a cada dois meses (Osório & Castilho, 2004). A CFT apresenta uma importante ferramenta quanto ao estabelecimento de medicamentos padronizados pelo hospital e de fornecimento ao paciente, além de proporcionar através de critérios de inclusão e exclusão uma segurança no que diz respeito ao uso de medicamentos utilizados e padronizados pelo município (Santana et al., 2014). A participação e o envolvimento dos profissionais da equipe de saúde diretamente no processo de seleção contribuem para que se sintam corresponsáveis com a relação de medicamentos selecionados, além de acrescentar valor técnico ao trabalho. Essa participação pode contribuir com a aceitação da lista e com a prescrição dos medicamentos contemplados (Oliveira & Munaretto 2010). O farmacêutico desempenha um importante papel como participante da CCIH. De acordo com Nicolini et al. (2008), o farmacêutico é o profissional capacitado para avaliar as prescrições, propor o uso racional de medicamentos e praticar a atenção farmacêutica, oferecendo informação e orientação sobre a utilização dos mesmos.

Todas essas ações apontam a um denominador comum, a promoção do uso racional de antibióticos para a diminuição da resistência bacteriana, possibilitando o decréscimo de gastos com a saúde. O modelo de PES é relevante na busca desse objetivo, uma vez que confere uma concepção caracterizada por uma mudança no entendimento do papel do gestor no processo de elaboração e de implementação de políticas, pois nesse enfoque o planejador é um ator social, sendo parte de um jogo no qual existem outros atores com interesses e forças distintos (Oliveira & Borges 2014). Isto posto, todos os atores deram a importância necessária ao problema priorizado, frisando a importância da metodologia utilizada para se chegar a uma resolubilidade, além de adotarem-na como uma forma prática e exequível de resolver os problemas relacionados ao município.

CONCLUSÃO

A assistência farmacêutica exerce papel primordial na prevenção, identificação e resolução de problemas relacionados ao uso de medicamentos (PRM), buscando a melhoria no alcance dos objetivos terapêuticos. Podendo colaborar substancialmente para o uso racional dos antimicrobianos pelo seguimento farmacoterapêutico e das orientações durante o ato da dispensação, identificando a necessidade, efetividade e segurança das terapias medicamentosas prescritas. Garantir o uso racional de antimicrobianos é um importante desafio para a assistência farmacêutica no Sistema Único de Saúde, e para caminhar rumo ao objetivo estabelecido é necessário colocar em prática as ações elaboradas no presente estudo. Portanto, o desenvolvimento

das ações via PES foi fundamental para a qualificação da assistência farmacêutica no município em estudo, sendo um importante passo rumo à concretização do seu objetivo principal.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Portaria nº 930, de 27 de Agosto de 1992. **Diário Oficial da república Federativa do Brasil, Brasília**, v. 130, nº 171, pag. 12279, 04 de Setembro de 1992, Sec.

CASTRO, M. J. R., MENEZES, R. A. O., SOUZA, M. J. C., BARBOSA, F. H. F., MEDEIROS, A. A. N., CARDOSO, A. M. C. Análise da assistência farmacêutica prestada pelo programa farmácia popular do Brasil no município de Macapá – Amapá. **Ciência Equatorial**. 3(1): 29 - 37, 2013.

FERREIRA, T. A., FERREIRA, F. D. Qualidade da prescrição de antimicrobianos comercializados na região noroeste do paraná, Brasil. **Rev. Saúde e Biologia**. 10(1): 131 - 137, 2015.

GRIGORYAN, L., HAAIJER-RUSKAMP, F. M., BURGERHOF, J. G. M. Selfmedication with antimicrobial drugs in Europe. **Emerg. Infect. Dis**. 12: 452 – 459, 2006.

JUNGES, J. R., BARBIANI, R., ZOBOLI, E. L. C. P. Planejamento Estratégico como exigência  tica para a equipe e a gestão local da Aten o Básica em Saúde. **Interface, comunica o em saúde**. 19(53): 265 – 74, 2015.

JÚNIOR, J. V. P., MENGUE, S. S. Análise do nível de informa o sobre medicamentos antimicrobianos por pacientes de um centro de saúde de Porto Alegre, Brasil. **Revista Brasileira de Aten o Farmacêutica**. 24(1): 134 – 138, 2005.

LAMB, L., SHIMIZU, H. E. Assistência farmacêutica no SUS na perspectiva dos gestores estaduais de saúde. **Actas de saúde coletiva**. 8(4):143 – 155, 2014.

LIELL, A. P., TOSCAN, C., WEBER, D., SCHWINGEL, D., GONÇALVES, C. B. C. Indicadores do uso racional de medicamentos artigos originais. **Revista da AMRIGS**. Porto Alegre, 53(4): 341- 344, 2009.

NOGUEIRA, A. G., MORAES, E. V., TOLEDO, O. R., OLIVEIRA, C. C., DAVID, F. L. Falhas na prescri o e dispensa o de antimicrobianos em uma farmácia básica na amazônia legal, Brasil. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**. 13(5): 707 – 716, 2015.

NETO, P. R. O., VIEIRA, J.C., CUMAN, R. K. N. Impacto da aten o farmacêutica no uso racional de antimicrobianos em uma unidade básica de saúde no interior do Estado de São Paulo. **Ciência da Saúde**. Maringá, 33(2): 159 - 164, 2011.

NICOLINI, P., NASCIMENTO, J. W. L., GRECO, K. V., MENEZES, F. G. Fatores relacionados à prescri o médica de antibióticos em farmácia pública da região Oeste da cidade de São Paulo. **Ciência e Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro, 13: 689 - 696, 2008.

NOVARETTI, M. C. Z., AQUINO, S., PISCOPO, M. R. Controle de vendas de antibióticos no Brasil: análise do efeito dos atos regulatórios no uso abusivo pelos consumidores. **Revista Acadêmica São Marcos**. 2(9): 25 – 39, 2014.

OLIVEIRA, D. K. S., BORGES, J. C. M. Desenvolvimento de um plano operativo na farmácia básica: um estudo de caso em um município do estado do Tocantins. **Revista Cereus**. 6(1): 92 -104, 2014.

OLIVEIRA, K. R., MUNARETTO, P. Uso racional de antibióticos: Responsabilidade de prescritores, usuários e dispensadores. **Revista contexto & saúde**. 9: 43 - 51, 2010.

PEREIRA, L. R. L., FREITAS, O. A evolução da Atenção Farmacêutica e a perspectiva para o Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. 44(4): 26 – 37, 2008.

RIVERA, F. J. U., ARTMANN, E. Planejamento e gestão em saúde: flexibilidade metodológica e agir comunicativo. **Ciência e Saúde Coletiva**. 4(2): 355 - 365, 1999.

ROSA, L. S., PINEDO, F. J. R. A Importância do Farmacêutico dentro de um Programa de Controle de Infecção Hospitalar (PCIH). **Revista de Saúde Pública**. 7: 119 – 128, 2010.

ROSA, L. S. A importância do farmacêutico dentro de um programa de controle de infecção hospitalar (PCIH). **Revista de Ciências da Saúde**. 3: 56 - 70, 2012.

SANTANA, R. S, LOBO, I. M. F., PENAFORTE, T. R., LEITE, S. N., SILVA, W. B. A institucionalização da seleção de medicamentos em hospitais públicos por meio do planejamento estratégico situacional. **Revista de Administração pública**. 48(6):1587 - 1603, 2014.

SANTOS, V., OTTATI, S. M., NITRINIB, O. Indicadores do uso de medicamentos prescritos e de assistência ao paciente de serviços de saúde. **Revista de Saúde Pública**. 38(6): 819 – 826, 2004.

VIEIRA, F. S, ZUCCHI,P. Gestão da Assistência Farmacêutica: Análise da situação de alguns municípios. **Actas de saúde coletiva**. 8(4): 11 – 29, 2014.

AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE DESINFECÇÃO DE ARTIGOS SEMICRÍTICOS EM UM HOSPITAL ESCOLA

Jéssica Rosin

Fabiana Gonçalves de Oliveira Azevedo
Matos

Debora Cristina Ignácio Alves

Fabiana Severino Kupka

Jéssica Martins Valter

Adriana Souza

RESUMO: O Centro de Material Esterilizado é definido como uma unidade funcional destinada ao processamento de produtos para a saúde dos serviços de saúde. **Objetivo:** avaliar o processo de desinfecção química de artigos semicríticos realizado no Centro de Material e Esterilização de um hospital escola. **Método:** Trata-se de pesquisa descritiva, com análise quantitativa dos dados, aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa. O estudo se desenvolveu no CME de um hospital escola localizado no interior do Paraná. A equipe de enfermagem da unidade pesquisada era composta por uma enfermeira responsável pelo setor e por 20 técnicos/auxiliares de enfermagem. Fizeram parte da amostra de estudo todos os funcionários de enfermagem do CME que concordaram em participar da pesquisa por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE. **Resultados:** A amostra de estudo foi composta por 15 (100%) profissionais da equipe de enfermagem. Para avaliar o processo de

desinfecção química, as variáveis de estudo foram agrupadas em dois eixos temáticos: conhecimento sobre processo de desinfecção e operacionalização do processo de desinfecção. **Conclusões:** os resultados do estudo indicaram falta de conhecimento teórico para a execução do processo de desinfecção química e falhas técnicas na execução do mesmo e ressalta a necessidade de capacitação em serviço para otimizar o processo de trabalho no setor pesquisado.

DESCRITORES: Enfermagem; Controle de infecções; Desinfecção; Segurança do paciente; Saúde do trabalhador.

ABSTRACT: The Sterilized Material Center is defined as a functional unit destined to the processing of products for the health of the health services. **Objective:** to evaluate the chemical disinfection process of semicritical articles carried out at the Material and Sterilization Center of a school hospital. **Method:** This is a descriptive research, with quantitative analysis of the data, approved by the Research Ethics Committee. The study was developed in the CME of a school hospital located in the interior of Paraná. The nursing team of the unit surveyed was composed of a nurse responsible for the sector and 20 nursing technicians / assistants. The study sample included all the CME nursing staff who agreed to participate in the study

through the signing of the Informed Consent Term - TCLE. **Results:** The study sample consisted of 15 (100%) professionals of the nursing team. To evaluate the chemical disinfection process, the study variables were grouped into two thematic axes: knowledge about the disinfection process and operationalization of the disinfection process. **Conclusions:** the results of the study indicate a lack of theoretical knowledge for the execution of the chemical disinfection process and technical failures in the execution of the same and highlights the need for in-service training to optimize the work process in the researched sector.

KEYWORDS: Nursing; Infection control; Disinfection; Patient safety; Occupational Health.

1 | INTRODUÇÃO

As atividades desenvolvidas no Centro de Material e Esterilização (CME) visam garantir qualidade e segurança no processamento de todos os materiais odonto-médico-hospitalares e, portanto, consiste em um trabalho de grande importância nas instituições de saúde (FLORÊNCIO; CARVALHO; BARBOSA, 2011).

O CME é definido como sendo uma unidade funcional destinada ao processamento de produtos para a saúde dos serviços de saúde (BRASIL, 2012-a).

Historicamente, até o início da década de 40, a limpeza, o preparo e o armazenamento dos materiais eram realizados pela equipe de enfermagem nas próprias unidades. O referido setor se encarregava exclusivamente de esterilizar os materiais cuja dinâmica do serviço era descentralizada. Em meados de 1950 surgiram os Centros de Material e Esterilização parcialmente centralizados nos quais uma parcela dos instrumentais e artigos começou a ser preparada e esterilizada no mesmo local. No entanto, com o avanço tecnológico das últimas décadas se firmou a necessidade de aprimoramento dos processos de limpeza, preparo, desinfecção, esterilização, controle e armazenagem dos artigos odonto-médico-hospitalares (FLORÊNCIO; CARVALHO; BARBOSA, 2011).

O processo de desinfecção de artigos para a saúde tem a finalidade de destruir microorganismos vegetativos, exceto esporos bacterianos, de forma a garantir segurança na manipulação e utilização dos produtos para saúde entre pacientes (CARVALHO, 2015).

O processo de desinfecção é indicado aos artigos semicríticos e aos artigos não críticos contaminados com matéria orgânica (PSALTIKIDIS, 2011). Os materiais semicríticos são aqueles que entram em contato com membranas mucosas íntegras ou com pele não íntegra. O risco potencial de transmissão de infecção envolvido nesses artigos é intermediário porque as membranas apresentam certa resistência às infecções causadas por esporos (PADOVEZE; GRAZIANO, 2011). Tais artigos devem passar pelo processo de limpeza e na sequência devem passar pelo processo de desinfecção de alto nível (BRASIL, 2012-a; CARVALHO, 2015). Já os materiais não

críticos são aqueles que entram em contato com a pele íntegra ou não entram em contato direto com o paciente. Nesses casos, o risco potencial de transmissão de infecção pelo contato com esses artigos é baixo sendo indicado apenas limpeza para os mesmos (a pele íntegra é barreira efetiva contra muitos micro-organismos), no entanto, se esses materiais estiverem contaminados com matéria orgânica, devem receber desinfecção de baixo nível (PADOVEZE; GRAZIANO, 2011).

O processo de desinfecção pode ser realizado por meios químicos ou físicos, sendo que o método físico, apesar de ser mais vantajoso que o método químico, tem sido o menos utilizado (PSALTIKIDIS, 2011). Entre os métodos de desinfecção por meios físicos, a desinfecção pelo calor deve ser a primeira escolha. Algumas vantagens da desinfecção térmica automatizada são: a padronização e a reprodutibilidade do procedimento, a monitorização e o registro do processo, ausência de resíduos no material, atoxicidade, baixo risco ocupacional e baixo custo operacional (PSALTIKIDIS, 2011).

O método de desinfecção química manual deve ser a última opção para o processamento de artigos devido a complexidade da execução de todo o processo e devido os danos causados pela toxicidade dos produtos aos profissionais de saúde, usuários e meio ambiente (SOBECC, 2017).

O referido processo não dispõe de indicadores de resultado, somente indicadores de processo. Para tanto, para o sucesso da desinfecção química é necessário realizar alguns cuidados importantes, tais como: controlar a concentração do princípio ativo do desinfetante e o pH da solução, controlar rigorosamente o tempo de imersão dos materiais segundo a orientação do fabricante, deve haver contato da solução desinfetante com todas as áreas a serem desinfetadas, (inclusive lumens de materiais canulados), o enxágue do material desinfetado deve ser abundante para favorecer a remoção completa do agente desinfetante (CALICCHIO; LARANJEIRA; GRAZIANO; MORIYA, 2011).

Diante do exposto, fica evidente a responsabilidade do CME em processar com segurança e eficiência os materiais utilizados na assistência aos usuários do serviço de saúde.

2 | OBJETIVO

Avaliar o processo de desinfecção química de artigos semicríticos realizado no Centro de Material e Esterilização de um hospital escola.

3 | MÉTODO

A pesquisa foi desenvolvida de acordo com as normas da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa da

Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE – Cascavel, CAAE número: 01279912.0.0000.0107.

Trata-se de uma pesquisa descritiva, com análise quantitativa dos dados. O estudo foi desenvolvido no CME de um hospital escola, de grande porte, de caráter público, localizado no interior do Paraná, que fornece atendimento para quatro regionais de saúde nas mais diversas especialidades. O setor avaliado é classificado como Classe II, pois realiza o processamento de artigos críticos, semicríticos e não-críticos, de conformação complexa e não complexa (BRASIL, 2012-a). A coleta de dados foi realizada por meio de entrevista aos profissionais atuantes na unidade, nos cinco turnos de trabalho, no período de novembro de 2012 a abril de 2013.

A equipe de enfermagem da unidade pesquisada era composta por uma enfermeira responsável pelo setor e por 20 técnicos/auxiliares de enfermagem. Fizeram parte do estudo todos os profissionais que aceitaram participar da pesquisa mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

A coleta de dados foi realizada em dois momentos: 1) consulta aos profissionais de enfermagem sobre o interesse em participar do estudo e 2) entrevista individual dos mesmos. O instrumento de coleta de dados foi elaborado pelas autoras com base na literatura específica. O instrumento era composto por 12 questões fechadas que objetiva explorar o processo de desinfecção química realizado no CME em estudo. O registro dos dados foi feito de forma manual e posteriormente tabulados em um banco de dados desenvolvido no programa Microsoft Office Excel 2010.

Para avaliar o processo de desinfecção química, as variáveis de estudo foram agrupadas em dois eixos temáticos, sendo eles: conhecimento sobre processo de desinfecção e operacionalização do processo de desinfecção. A análise dos dados foi feita por meio de estatística descritiva e posterior discussão baseada na literatura específica.

4 | RESULTADOS

A equipe de enfermagem que atuava no CME era composta por 21 (100,0%) funcionários. No período da coleta de dados, um (4,8%) funcionário estava de licença maternidade, dois (9,5%) funcionários não realizavam o processo de desinfecção por motivos de saúde e três (14,3%) funcionários não concordaram em participar da pesquisa. No total, fizeram parte do estudo 15 (71,4%) profissionais da equipe de enfermagem.

Com relação à caracterização da amostra, observou-se que a maioria dos funcionários era do sexo feminino (n=13; 86,7%), estava na faixa etária de 35 a 45 anos (n=8; 53%), atuava no setor entre 1 e 10 anos (n=8; 53%) e possuía formação de nível superior (n=9; 60%).

Os resultados do estudo foram agrupados em dois eixos temáticos: conhecimento sobre processo de desinfecção e operacionalização do processo de desinfecção.

A Tabela 1 evidencia os achados do eixo conhecimento sobre processo de desinfecção, que avaliou quatro variáveis de estudo.

Conhecimento sobre processo de desinfecção	SIM n (%)	NÃO n (%)
Conteúdo teórico sobre desinfecção durante a formação	14 (93,3)	01(6,7)
Conhecimento sobre o processo de desinfecção de artigos	01 (6,7)	14 (93,3)
Conhecimento sobre a classificação de Spaulding	04 (26,7)	11 (73,3)
Capacitação em serviço sobre o processo de desinfecção	10 (66,7)	05 (33,4)

Tabela 1 - Distribuição das variáveis referentes ao eixo temático: conhecimento sobre processo de desinfecção (N = 15) - Cascavel - 2013.

Fonte: Dados da pesquisa.

A Tabela 2 evidencia os achados do eixo operacionalização do processo de desinfecção, que avaliou oito variáveis de estudo.

Operacionalização do processo de desinfecção	SIM n (%)	NÃO n (%)
Conhece o método de desinfecção realizado no setor	07 (46,7)	08 (53,3)
Reconhece a limpeza como pré-requisito para a desinfecção	04 (26,7)	11 (73,3)
Os artigos são secos antes do contato com o desinfetante	01 (6,7)	14 (93,7)
Os artigos são totalmente imersos na solução desinfetante	12 (80)	03 (20)
O tempo de contato do artigo com o desinfetante é controlado	10 (66,7)	05 (33,3)
Os artigos são enxaguados após o contato com o desinfetante	15 (100)	00 (0)
É realizado controle da concentração do desinfetante	01 (6,7)	14 (93,3)
São seguidos os protocolos institucionais de desinfecção de artigos	05 (33,3)	10 (66,7)

Tabela 2 - Distribuição das variáveis referentes ao eixo temático: operacionalização do processo de desinfecção (N = 15) - Cascavel - 2013.

Fonte: Dados da pesquisa.

5 | DISCUSSÃO

Com relação à caracterização da amostra, o presente estudo observou-se que a maioria dos funcionários era do sexo feminino (n=13; 86,7%), estava na faixa etária de 35 a 45 anos (n=8; 53%), atuava no setor entre 1 e 10 anos (n=8; 53%) e possuía formação de nível superior (n=9; 60%). Assim como na presente pesquisa, um estudo recente realizado em um hospital escola da região sudeste do Brasil (COSTA; SOUZA; PIRES, 2016) também identificou a predominância de funcionários do sexo feminino entre os trabalhadores do CME (64,7%) e também identificou que a maioria dos funcionários atuavam no setor entre 1 e 10 anos (64,7%). No entanto a maioria dos

trabalhadores (44,1%) se encontravam em uma faixa etária menor (de 25 a 35 anos) do que a identificada no presente estudo e apenas 11,8 % possuíam formação de nível superior. A busca pelo aprimoramento profissional por meio do ingresso no ensino superior é uma característica atual da enfermagem (COSTA; SOUZA; PIRES, 2016).

Com relação ao eixo temático “conhecimento sobre processo de desinfecção”, quando questionados sobre a abordagem do processo de desinfecção durante a formação profissional (como auxiliares, técnicos ou enfermeiros), 93,3% (n=14) dos entrevistados reconheceram que este tema esteve presente na sua formação, no entanto, quase a totalidade dos funcionários (n=14; 93,3%) apresentaram conhecimento deficiente sobre o processo de desinfecção. Com base nas respostas dos entrevistados foi possível identificar incoerências entre a prática realizada e o preconizado pela literatura, visto que alguns aspectos considerados essenciais para o sucesso do processo de desinfecção não eram unânimes nas falas dos entrevistados. Tais aspectos serão explanados no eixo “operacionalização do processo de desinfecção”.

Com relação ao conhecimento sobre a Classificação de Spaulding, 73,3% (n=11) dos entrevistados responderam que não conheciam tal classificação, no entanto, é ela que indica o tipo de processamento (limpeza, desinfecção ou esterilização) que cada artigo deve ser submetido. Esta classificação indica o nível mínimo de processamento requerido para um determinado material, sendo aceitável que seja aplicado um processamento mais rigoroso, desde que viável do ponto de vista econômico e operacional (PADOVEZE; GRAZIANO, 2011; STIER, 2003). Ressalta-se que os produtos para saúde classificados como críticos devem sempre ser submetidos ao processo de esterilização após a limpeza, já os produtos para saúde classificados como semicríticos devem ser submetidos, no mínimo, ao processo de desinfecção de alto nível após a limpeza (BRASIL, 2012-a; CARVALHO, 2015), no entanto, em algumas circunstâncias, os artigos semicríticos devem ser submetidos à esterilização pelo risco do artigo tornar-se crítico, como em lesões acidentais de mucosas (BRASIL, 2001). Da mesma forma artigos não críticos, que passariam apenas pelo processo de limpeza, devem ser desinfetados quando contaminados com matéria orgânica (PSALTIKIDIS, 2011). Diante do exposto, ressaltamos ser importante que todos os profissionais atuantes no CME tenham conhecimento sobre a referida classificação.

Com relação à capacitação em serviço sobre desinfecção de artigos, 33,4% (n=05) dos entrevistados afirmaram que não recebiam capacitação em serviço sobre desinfecção de artigos, no entanto, dispomos de legislações que determinam que os profissionais de CME e de empresas processadoras devem receber capacitação específica e periódica nos seguintes temas: classificação de artigos; microbiologia; transporte dos materiais contaminados; limpeza, desinfecção e esterilização; monitoramento de processos; rastreabilidade, armazenamento e distribuição dos produtos para saúde (BRASIL, 2012-a). Estudo recente realizado em um CME evidenciou a necessidade do desenvolvimento de um programa de educação continuada com o intuito de melhorar a qualidade do trabalho realizado no setor. O estudo aponta que

a educação continuada é uma importante ferramenta para proporcionar mudanças comportamentais e fornecer subsídios para a correta execução das atividades rotineiras possibilitando melhora no desempenho laboral, além de ser um recurso que auxilia o profissional a refletir sobre suas ações no ambiente de trabalho (FARIAS; CALDAS; MIRANDA; NAGLIATE; FREITAS; VASCONCELOS, 2016).

O eixo temático “operacionalização do processo de desinfecção” (Tabela 2) analisou 08 variáveis, sendo elas: método de desinfecção realizado, limpeza dos artigos como pré-requisito do processo de desinfecção, secagem obrigatória dos artigos antes de serem colocados na solução desinfetante, imersão completa dos artigos na solução desinfetante, tempo adequado de contato do artigo com o produto químico, enxágue abundante com água corrente dos artigos após o contato com o agente desinfetante, realização de testes para controle de pH/concentração da solução desinfetante e cumprimento das orientações contidas nos protocolos operacionais padrão (POP) da instituição.

O estudo evidenciou que 53,3% (n=8) dos funcionários não sabiam qual era o método de desinfecção realizado no seu cotidiano de trabalho. No local pesquisado o processo de desinfecção de artigos era realizado por método químico, utilizando exclusivamente o ácido peracético 2% (HUOP, 2013). O referido desinfetante promove a desnaturação de proteínas e alteração na permeabilidade da parede celular, oxidando as ligações sulfidril e sulfúricas em proteínas e enzimas. Tem como vantagem manter-se efetivo na presença de matéria orgânica e apresentar baixa toxicidade. Como desvantagem, é instável quando diluído, corrosivo para metais (cobre, latão, bronze, ferro galvanizado), sua atividade é reduzida pela modificação do pH e pode causar irritação nos olhos e no trato respiratório. Em baixas concentrações (0,001% a 0,2%) apresenta rápida ação contra micro-organismos, incluindo os esporos (BRASIL, 2012-b).

Outro ponto importante a ser ressaltado é que mais da metade dos profissionais entrevistados (n=11; 73,3%) responderam que a limpeza não era pré-requisito para a realização do procedimento de desinfecção. Sabe-se que o processo de limpeza visa a remoção de sujidades orgânicas e inorgânicas utilizando água, detergentes, produtos e acessórios de limpeza. Por meio de ação mecânica (manual ou automatizada) a limpeza deve ser feita nas superfícies internas (lúmen) e externas dos artigos de forma a torná-los seguros para manuseio e prontos para serem submetidos ao processo de desinfecção ou esterilização. Se um artigo não for adequadamente limpo, dificultará o processo de desinfecção e/ou esterilização, reduzindo a probabilidade de eliminação dos micro-organismos ao final do processo, principalmente quando o *bioburden* for muito alto (GRIEP; PICCOLI, 2002). Por este motivo, a limpeza dos artigos torna-se extremamente importante para garantir a segurança do processo ao qual o artigo será submetido, uma vez que o sucesso da desinfecção/esterilização depende da carga microbiana presente inicialmente no artigo (GRIEP; PICCOLI, 2002).

Quase a totalidade dos entrevistados (n=14; 93,3%) responderam que não

secavam os artigos antes de colocá-los na solução desinfetante. Estudo recente evidenciou que em 75% das vezes em que houve a necessidade de troca da solução desinfetante, a causa foi a alteração na concentração mínima do desinfetante devido a imersão de artigos molhados na solução (OLIVEIRA; MATI, 2002).

A maioria dos entrevistados (n=12; 80%) afirmou que os materiais eram totalmente imersos na solução desinfetante. Para garantir um adequado processo de desinfecção, a imersão dos artigos deve ser completa, com preenchimento de todas as estruturas e lumens, evitando que bolhas de ar impeçam o contato do desinfetante com a superfície do material (PSALTIKIDIS, 2011).

Quanto ao tempo de imersão dos artigos na solução desinfetante, 66,7% (n=10) dos funcionários responderam que o tempo de contato adequado é respeitado, no entanto, foi possível perceber que não há consenso sobre o tempo recomendado. Quando questionados sobre o tempo de contato recomendado, 10 (66,7%) funcionários responderam 30 minutos, um (6,7%) funcionário respondeu uma hora, um (6,7%) funcionário respondeu acima de 40 minutos, um (6,7%) funcionário respondeu 20 minutos e dois (13,4%) funcionários não souberam responder. Esse equívoco sobre o tempo adequado necessário para a desinfecção de artigos pode comprometer todo o processo. Salientamos que no setor em estudo o tempo de contato do produto com o artigo a ser desinfetado deveria ser 30 minutos (HUOP, 2013). O tempo de contato definido deve ser respeitado, devendo ser cronometrado a partir da imersão do último item na solução e, ao longo do período não deve ser inserido nenhum outro material. Além do contato da solução com todas as áreas a serem desinfetadas o controle rigoroso do tempo de imersão dos materiais são alguns dos requisitos necessários para o sucesso da desinfecção química (PSALTIKIDIS, 2011).

Todos os entrevistados (n=15; 100%) relataram que ao finalizar o tempo de contato dos artigos com o produto desinfetante era realizado o enxágue dos mesmos com água corrente. A literatura recomenda que essa atividade seja realizada em local específico e deve ser feita com água tratada e corrente (BRASIL, 2012-a; BRASIL, 2001). Para tanto, a água que abastece os CMEs deve ter qualidade diferenciada. Para este setor não basta obedecer aos padrões de potabilidade, pois muitas vezes, a água em uso é potável, porém pode estar impregnada com metais pesados e cloro, o que acelera a corrosão dos metais (BRASIL, 2001). Dessa forma, deve-se realizar o monitoramento e o registro (com periodicidade definida em protocolo) da qualidade da água, incluindo a mensuração da dureza da água, pH, íons cloreto, cobre, ferro, manganês e a carga microbiana nos pontos de enxágue da área de limpeza (BRASIL, 2012-a).

De acordo com a legislação vigente que orienta as práticas de processamento de produtos para a saúde, o CME deve realizar a monitorização dos indicadores de efetividade dos desinfetantes para artigos semicríticos, como concentração, pH ou outros, no mínimo uma vez ao dia, antes do início das atividades (BRASIL, 2012-a), no entanto, 93,3% (n=14) dos funcionários afirmaram que este teste não era realizado no

setor em estudo.

Por fim, 66,7% (n=10) dos funcionários responderam que não seguiam os protocolos para a realização do processo de desinfecção. Os protocolos devem contemplar descrições detalhadas de todas as operações necessárias à realização de uma determinada atividade e estabelece um roteiro padronizado para a execução da mesma, tendo o objetivo de uniformizar procedimentos, melhorar os resultados e minimizar danos aos pacientes e à instituição (HOSPITAL GETULIO VARGAS, 2012). Compete ao enfermeiro do CME participar da elaboração dos protocolos de todas as etapas do processamento de produtos para a saúde (HOSPITAL GETULIO VARGAS, 2012). Os mesmos devem ser construídos com base em referencial científico atualizado e normatização vigente, devem ser amplamente divulgados e estar disponíveis para consulta (BRASIL, 2012-a; COFEN, 2012). Falhas na adesão às recomendações baseadas em evidências científicas, descritas nos manuais, podem ser a causa de surtos de infecção descritos na literatura (PSALTIKIDIS, 2011).

Diante dos inúmeros equívocos e falhas técnicas identificadas resultantes da falta de conhecimento teórico para a execução do processo de desinfecção química de artigos semicríticos, o presente estudo aponta a necessidade de implantação de um programa educacional institucional para capacitação em serviço no CME avaliado.

Consideramos que o fato da coleta de dados ter sido feita apenas por meio de entrevista aos sujeitos de pesquisa seja uma limitação do estudo. Acreditamos que a inclusão de uma fase observacional como parte da coleta de dados complementaria os achados de pesquisa. Outra limitação é que os resultados do estudo dizem respeito a uma única instituição de saúde, o que fragiliza a generalização dos mesmos, no entanto, o estudo fez um importante diagnóstico situacional que pode servir de alerta para os demais serviços de saúde. A pesquisa se deteve em diagnosticar o cenário avaliado e diante das falhas identificadas, apontou a necessidade de medidas para promover capacitação em serviço, mas não as implementou. Ressaltamos a importância da realização de novos estudos após a concretização das atividades educativas.

Os resultados do estudo favorecem a ampla reflexão sobre o processamento de materiais semicríticos nos serviços de saúde. A ocorrência de infecções decorrentes da falha no processamento dos mesmos é uma triste realidade que pode ser evitada por meio da implementação de ações gerenciais pouco complexas e de baixo custo. Apesar de negativos, os resultados do estudo apontam a necessidade de estender o olhar para os “bastidores do cuidado” que costumam ser banalizados, mas são essenciais para o sucesso de toda e qualquer ação em saúde.

6 | CONCLUSÃO

Verificamos no presente estudo que o processo de desinfecção química realizado no CME do hospital em estudo não era coerente com o preconizado pela literatura

e atendia parcialmente as recomendações das legislações vigentes. Os resultados indicaram falta de conhecimento teórico para a execução do processo de desinfecção química e falhas técnicas na execução do mesmo. O estudo aponta a necessidade de capacitação em serviço para otimizar o processo de trabalho no setor pesquisado.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Coordenação Geral das Unidades Hospitalares Próprias do Rio de Janeiro. **Orientações Gerais para Central de Esterilização**. 2001. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/orientacoes_gerais_central_esterilizacao_p1.pdf>. Acesso em: 20 mar 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada nº 15** de 15 de março de 2012: dispõe sobre requisitos de boas práticas para o processamento de produtos para saúde e dá outras providências. 2012-a. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0015_15_03_2012.html>. Acesso em: 15 mar 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Segurança do paciente em serviços de saúde: limpeza e desinfecção de superfícies**. 2012-b. Disponível em: <<https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/item/seguranca-do-paciente-em-servicos-de-saude-limpeza-e-desinfeccao-de-superficies>>. Acesso em: 15 mar 2016.

CARVALHO, R. Conceitos básicos no bloco cirúrgico, classificação de áreas e artigos e classificação de cirurgias. In: _____. **Enfermagem em centro de material, biossegurança e bioética**. Barueri (SP): Ed Manole, 2015. p.35-57.

CALICCHIO, L.G.; LARANJEIRA, P.R.; GRAZIANO, K.U.; MORIYA, G.A.A. Controle de Esterilização e Desinfecção. In: GRAZIANO, K.U.; SILVA, A.; PSALTIKIDIS, E.M. **Enfermagem em Centro de Material e Esterilização**. Barueri (SP): Ed Manole, 2011. p. 204-236.

COFEN - Conselho Federal de Enfermagem. **Resolução 424**, de 19 de Abril de 2012: normatiza as atribuições dos profissionais de enfermagem em Central de Material e Esterilização e em empresas processadoras de produtos para saúde [Internet], 2012. Disponível em: <http://www.cofen.gov.br/resoluo-cofen-n-4242012_8990.html>. Acesso em 19 jun 2016.

COSTA, C.C.P.; SOUZA, N.V.D.O.; PIRES, A.S. Profile of workers of a material and sterilization: an analysis of social and professional characteristics. **Rev. Pesqui. Cuid. Fundam**, v. 8, n. 1, p. 3633-3645, 2016. Disponível em:< http://www.seer.unirio.br/index.php/cuidadofundamental/article/view/3667/pdf_1767>. Acesso em: 15 mar 2017.

FARIAS, I.S.; CALDAS, C.M.; MIRANDA, L.N.; NAGLIATE, P.C.; FREITAS, D.A.; VASCONCELOS, E.L. Continuing education in a material and sterilization center: perception of the nursing team. **Rev. enferm. UFPE**, v.10, n. 7, p.2604-2610, 2016. Disponível em: <<https://periodicos.ufpe.br/revistas/revistaenfermagem/article/view/11320/13007>>. Acesso em: 20 mar 2017.

FLORÊNCIO, A.C.U.S; CARVALHO, R.; BARBOSA, G.S. O impacto do trabalho do centro de materiais na qualidade da assistência. **Revista SOBECC** (Impresso), v. 16, n. 1, p. 31-39,

2011.

GRIEP, R.; PICOLLI, M. Validação dos processos de limpeza e desinfecção dos artigos de inaloterapia e oxigenoterapia. **Cogitare Enfermagem**, v. 7, n. 2, p. 65-67, 2002. Disponível em: <<http://revistas.ufpr.br/cogitare/article/viewFile/1671/1397>>. Acesso em: 16 dez 2016.

HUOP - Hospital Universitário do Oeste do Paraná. Procedimentos Operacionais Padrão. **POP nº 07**. Desinfecção de alto nível. p. 21-22, 2013.

OLIVEIRA, A.C., MATI, M.L.M. Factors related to exchange of disinfection solutions of endoscopic devices. **Rev. Sobecc**, v. 20, n. 1, p. 24-29, 2015. Disponível em: <<http://files.bvs.br/upload/S/1414-4425/2015/v20n1/a5066.pdf>>. Acesso em 27 mar 2017.

HGV - Hospital Getúlio Vargas. **Procedimentos Operacionais Padrão** [Internet]. 2012. Disponível em: <http://www.hgv.pi.gov.br/download/201303/HGV15_814d59c90e.pdf>. Acesso em 20 jun 2016.

PADOVEZE, M.C.; GRAZIANO, K.U. Aspectos conceituais e microbiológicos relacionados ao processamento de materiais utilizados na assistência à saúde. In: GRAZIANO, K.U.; SILVA, A.; PSALTIKIDIS, E.M. **Enfermagem em Centro de Material e Esterilização**. Barueri (SP): Ed Manole, 2011. p.22-61.

PSALTIKIDIS, E. M. Desinfecção. In: GRAZIANO, K. U.; SILVA, A.; PSALTIKIDIS, E. M. **Enfermagem em Centro de Material e Esterilização**. Barueri (SP): Ed Manole, 2011. p.167-203.

SOBECC – Sociedade Brasileira de Enfermeiros de Centro Cirúrgico, Recuperação Anestésica e Centro de Material e Esterilização. Desinfecção de produtos para saúde. In: **Diretrizes de práticas em enfermagem cirúrgica e processamento de produtos para a saúde**. 7 ed. Barueri (SP): Ed Manole, 2017. p.61-83.

STIER, C.J.N. Desinfecção térmica por pasteurização: eficácia, economia e ecologia no reprocessamento de artigos. **Revista SOBECC** (Impresso), v. 8, n. 1, p. 26-30, 2003.

SOBRE OS ORGANIZADORES

Fabício Loreni da Silva Cerutti Coordenador de Curso do Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais (CESCAGE). Professor adjunto do Instituto Latino Americano de Pesquisa e Ensino Odontológico (ILAPEO). Tecnólogo em Radiologia pela Universidade Tecnologia Federal do Paraná (UTFPR). Mestre e doutorando em Engenharia Biomédica pelo programa de Pós Graduação em Engenharia Elétrica e Informática Industrial (CPGEI) da UTFPR. Possui experiência com o desenvolvimento de pesquisas na área de diagnóstico por imagem, física nuclear, controle de qualidade e simulação computacional.

Cristiane Rickli Barbosa Professora adjunta do Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais (CESCAGE), nos cursos de Tecnologia em Radiologia e Bacharelado em Fisioterapia. Professora adjunta da Unicesumar (Unidade Ponta Grossa), no curso de Bacharelado em Biomedicina. Bacharel em Biomedicina pela Unicesumar (Unidade Maringá). Mestre e Doutoranda em Ciências Farmacêuticas pelo programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Estadual de Ponta Grossa. Possui experiência no desenvolvimento de pesquisas na área de análises clínicas e avaliação de processos fisiopatológicos.

Lais Daiene Cosmoski Professora adjunta do Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais (CESCAGE), nos cursos de Tecnologia em Radiologia e Bacharelado em Farmácia. Analista clínica no Laboratório do Hospital Geral da Unimed (HGU). Bacharel em Biomedicina pelas Universidades Integradas do Brasil (UniBrasil). Especialista em Circulação Extracorpórea pelo Centro Brasileiro de Ensinos Médicos (Cebramed) Mestre em Ciências Farmacêuticas pelo programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da UEPG. Possui experiência com o desenvolvimento de pesquisas na área de avaliação clínico/laboratorial de processos fisiopatológicos.

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-85107-20-8



9 788585 107208